



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

STABILIZACE PIVNÍ PĚNY POMOCÍ BIOSURFAKTANTŮ

BEER FOAM STABILIZATION USING BIOSURFACTANTS

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Sabina Jandrtová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D.

BRNO 2019

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1298/2018 Akademický rok: 2018/19
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Bc. Sabina Jandrtová**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie
Vedoucí práce: **Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D.**

Název diplomové práce:

Stabilizace pивní pěny pomocí biosurfaktantů

Zadání diplomové práce:

1. Zpracovat literární rešerši na dané téma
2. Sestavit a otestovat laboratorní zařízení pro stanovení stability piva
3. Vyvinout a optimalizovat metody pro stanovení povrchového napětí, organických kyselin, elementárního složení a profilu sacharidů v pivu
4. Otestovat různé typy biosurfaktantů na bázi glykolipidů, polysacharidů a saponinů
5. Statisticky vyhodnotit experimentální data a definovat závěry celého experimentu

Termín odevzdání diplomové práce: 17.5.2019:

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí diplomové práce.

Bc. Sabina Jandrtová
student(ka)

Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2019

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zabývá zkoumáním stability pěny piva. Konkrétně byl sledován vliv ethanolu a povrchového napětí na stabilitu pěny a vliv ethanolu a povrchového napětí na výšku sloupce pěny. Bylo provedeno též pozorování vlivu hořkých chmelových kyselin na pěnu. Dále byly do piva přidávány různé biosurfaktanty, u kterých byl předpoklad stabilizace pивní pěny.

V teoretické části je blíže popsána pěna z fyzikálního hlediska. Jsou zde vypsány její čtyři klíčové kroky – tvorba pěny, odvodňování, její koalescence a disproportionace. Dále se tato část zabývá pивní pěnou – složením a látkami ovlivňující její chování, a měřením pěnivosti piva. V této kapitole jsou též zmíněné biosurfaktanty – jejich charakteristika, vlastnosti, rozdělení a aplikace.

Experimentální část se věnuje vlivu ethanolu, povrchového napětí, koncentrace iso- α -hořkých kyselin na stabilitu pивní pěny jak v modelovém pивu, tak v reálných pivech. Dále je pozorován vliv biosurfaktantů přidaných do modelového piva na charakteristiku pěny a na ovlivnění povrchového napětí piva. Pro měření stability pěny piva byla sestrojena aparatura dle Rudina. Stanovení obsahu iso- α -hořkých kyselin bylo provedeno pomocí kapalinové chromatografie. Povrchové napětí bylo měřeno na tenziometru.

Z výsledků experimentu bylo zjištěno, že přidavkem ethanolu dochází ke změně charakteristiky pивní pěny, ale není jednoduché najít přímou korelaci mezi zvyšujícím se obsahem ethanolu a její stabilitou. Bylo pozorováno jisté propojení mezi obsahem alkoholu a povrchovým napětím, avšak mezi povrchovým napětím a výškou sloupce pěny již tak velkou korelaci nevykazovalo. V rámci přidavku biosurfaktantů bylo pozorováno, že tyto povrchově aktivní látky snižovaly povrchové napětí piva. Při pozorování charakteristiky pěny byl sledován rychlejší pokles pádu pěny s přidavkem biosurfaktantů než bez nich.

KLÍČOVÁ SLOVA

pивní pěna, stabilita pěny, povrchové napětí, hořké kyseliny, biosurfaktanty, rhamnolipidy, soforolipidy, saponiny

ABSTRACT

This diploma thesis focuses on a research of the foam stability of the beer. We specifically observed the influence of ethanol and surface tension on the foam stability, and influence of ethanol and surface tension on the height of the foam. It was observed the influence of the hop acids in non-alcoholic beers. Furthermore, different biosurfactants were added into to the beer to observe better stability of the foam.

The theoretical part of this work describes the foam from the physical aspect. There are described fourth key events involved in foam formation. Then it focuses on the beer foam – its structure, substances that influence its behavior and measurement of the foam stability. In this part there are described biosurfactants as well – their characteristics, qualities, distribution and applications.

The experimental part is dedicated to the influence of ethanol, surface tension, the amount of iso- α acids on foam stability in beer. There is observed the influence of biosurfactants of the foam stability and surface tension, which are added into to the beer. For the measurement of the foam stability was used the Rudin method. Liquid chromatography with DAD detector was used for the measurement the amount of the hop acids. The surface tension was determined by tensiometer.

According to the results addition of ethanol changed the characteristics of the foam stability, but it's not easy to find correlation between the increasing amount of ethanol and its stability. It was found out, that there is connection between the amount of ethanol and surface tension. On the other hand, there is not much connection between the surface tension and foam height. Within the framework of addition of biosurfactants was observed, that these foaming agents interacted the surface tension of the beer (lowering), however these agents accelerated the fall of the beer foam.

KEYWORDS

beer foam, foam stability, surface tension, hop acids, biosurfactants, rhamnolipids, saponins, sophorolipids

JANDRTOVÁ, S. *Stabilizace pивní pěny pomocí biosurfaktantů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2019. 77 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Jaromír Pořízka, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně, a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....

Sabina Jandrtová

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala vedoucímu své diplomové práce Ing. Jaromíru Pořízkovi, Ph.D. za odborné vedení, trpělivost, ochotu, čas, cenné připomínky a neutuchající optimismus v krizových situacích při řešení této práce. Dále bych poděkovala Ing. Lence Punčochářové za čas, pomoc při měřeních. Touto cestou bych také ráda poděkovala všem, kteří byli ochotní zapůjčit svá mobilní zařízení pro výzkumné účely, když mé vypovídalo službu.

OBSAH

1	Úvod.....	8
2	Teoretická část	9
2.1	Pěna z fyzikálního hlediska	9
2.1.1	Suchá a mokrá pěna.....	9
2.2	Tvorba a rozpad pěny	11
2.2.1	Tvorba pěny a velikost bublin	11
2.2.2	Odvodňování pěny	12
2.2.3	Koalescence.....	12
2.2.4	Disproporcionace a zánik pěny	13
2.3	Stabilita pěny	14
2.4	Pivní pěna	14
2.5	Měření pěnivosti piva	15
2.5.1	Měření poklesu povrchu pěny	16
2.5.2	Měření vodivosti pěny.....	17
2.5.3	Průchod světla pěnou.....	17
2.5.4	Měření pohybu rozhraní mezi kapalnou fází a pěnou piva	17
2.5.5	Měřiče s digitální kamerou	18
2.6	Faktory ovlivňující pěnivost.....	18
2.6.1	Látky pozitivně ovlivňující pěnivost piva	18
2.6.2	Látky negativně ovlivňující.....	19
2.7	Biosurfaktanty	19
2.7.1	Vlastnosti.....	20
2.7.2	Typy biosurfaktantů	21
2.7.3	Aplikace biosurfaktantů	25
2.8	Statistické metody pro analýzu dat.....	25
2.8.1	Analýza rozptylu	25
3	Experimentální část.....	26
3.1	Vzorky piva	26
3.2	Použité biosurfaktanty	26
3.3	Seznam použitých laboratorních pomůcek, přístrojů a chemikálií	27
3.4	Příprava vzorků	27
3.5	Stanovení povrchového napětí	28

3.6	Stanovení rozpadu pěny piva podle Rudina	29
3.7	Stanovení obsahu iso- α -hořkých kyselin.....	31
3.8	Statistická analýza dat	32
4	Diskuze a výsledky	33
4.1	Vliv ethanolu na stabilitu pěny na modelovém pivu	33
4.2	Vliv ethanolu na stabilitu pěny reálných piv	37
4.3	Porovnání stability pěny u modelových a reálných piv.....	39
4.4	Vliv iso- α -hořkých kyselin na stabilitu pěny piva.....	40
4.5	Studium charakteristiky pěny pomocí měření povrchového napětí	42
4.5.1	Vliv ethanolu na povrchové napětí vzorového piva	42
4.5.2	Korelace povrchového napětí s výškou pěny v 10. minutě ve vzorovém pivě	43
4.5.3	Vliv ethanolu na povrchové napětí u reálných piv	45
4.5.4	Korelace povrchového napětí s výškou pěny v 10. minutě u reálných piv	46
4.5.5	Porovnání výsledků mezi vzorovými a modelovými pivy	47
4.6	Vliv aplikace biosurfaktantů na povrchovém napětí	48
4.6.1	Stanovení povrchového napětí piva s přidavkem saponinů	48
4.6.2	Stanovení povrchového napětí piva s přidavkem sopforolipidů	49
4.6.3	Stanovení povrchového napětí piva s přidavkem rhamnolipidů	51
4.7	Měření stability pивní pěny podle Rudina s přidavkem biosurfaktantů	52
5	Závěr	58
6	Seznam použité literatury.....	60
7	Seznam použitých zkratk a symbolů	67
8	Přílohy.....	68

1 ÚVOD

Vzhled piva může být stejně významný jako jeho chuť. Jedná se o vliv, který spotřebitel hodnotí jako první než začne pít pivo. Typickým znakem charakterizující pivo patří bohatá, hustá a dlouhotrvající pěna. Z toho důvodu patří pivní pěna mezi jedny z hlavních faktorů, které ovlivňují hodnocení jeho kvality. Stabilita pivní pěny je též důležitá, tak jako její vzhled. Pokud pěna nevydrží delší dobu ve skle konzumenta, přestává pro něj být atraktivní. Pro lepší pochopení chování pivní pěny je nutné ji nejdříve prostudovat z fyzikálního a chemického hlediska. Jedná se o disperzi plynu v kapalině, která je ovlivněna mnoha faktory jak už pozitivními, tak negativními. Mezi látky, které pozitivně ovlivňují stabilitu pěny, patří bílkoviny (s hydrofobním charakterem), polypeptidy, hořké chmelové kyseliny, polysacharidy. Mezi negativně působící látky na penu náleží lipidy, aminokyseliny, některé kovové ionty (měď, cín, bismut), polyfenoly [1, 2].

Jelikož není určena jednotná metoda pro zhodnocení pěnivosti, je potřeba měřit více aspektů pro stanovení kvality pěny piva. Tato klasifikace zahrnuje stabilitu, množství, ulpívání, bělost a „krémovitost“ [3]. Mezi nejčastější metody používané pro výzkum kvality pěny patří NIBEM, index ulpívání, třepání, měření stability podle Rudina nebo Rosse a Clarka.

Pěnivost piva může být ovlivněna změnou složení, a to například přidávkou pozitivně ovlivňujících látek. Jedním možným postupem by také mohlo být přidání povrchově aktivních biomolekul, které by mohly zlepšit stabilitu pěny.

Cílem práce je sestavit a otestovat laboratorní zařízení pro stanovení stability pěny piva. Nejprve toto měření otestovat na modelovém nealkoholickém pivu s přidávkou ethanolu v koncentračním rozmezí (1–8 obj. %). Potom provést měření stability pěny piva na komerčních pivech. V rámci dalších měření sestavit a optimalizovat stanovení povrchového napětí v pivu. Z naměřených dat byla zjišťována korelace mezi ethanolem a povrchovým napětím a povrchovým napětím s výškou pěny v určitém čase. Předpokladem pozitivního vlivu hořkých chmelových kyselin změřit stabilitu pěny u nealkoholických piv a stanovit obsah těchto kyselin v pivech pomocí HPLC. Následně vybrat modelové pivo, do kterého budou přidávány biosurfaktanty (saponiny, rhamnolipidy, soforolipidy). V těchto vzorcích otestovat stabilitu pěny piva, jestli jejich přidavek má vliv na její ustálení. Pro posouzení a zjištění rozdílů mezi jednotlivými pivy je použita statická analýza rozptylu (ANOVA).

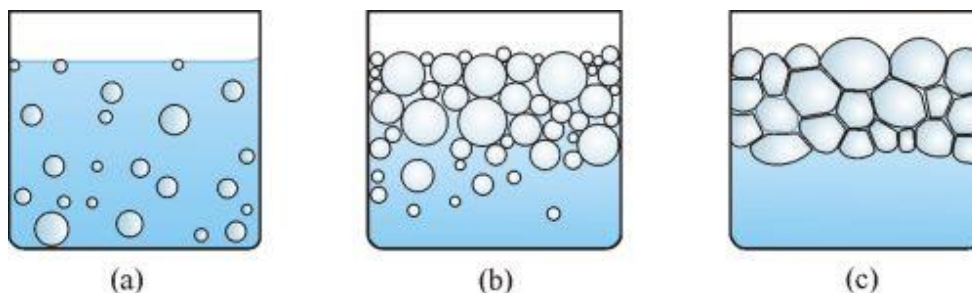
2 TEORETICKÁ ČÁST

Vzhled piva může být stejně důležitý jako jeho chuť. Jedná se o faktor, který konzument hodnotí na pivo jako první. Proto pivní pěna patří mezi jedny z hlavních znaků, které ovlivňují klasifikaci jeho kvality. Pro spodně kvašená piva (typická piva pro Česko) je charakteristické, že po nalití do sklenice vytvářejí bohatou, hustou a stálou pěnu [1, 4].

Mezi další faktory patří stabilita pěny – pěna nemůže být atraktivní pro spotřebitele, pokud nevydrží dlouho ve sklenici a nezanechává tzv. kroužky na skle. Pěna není důležitá jen z estetického hlediska pro konzumenta, ale také chrání samotné pivo před oxidací a znehodnocením aktivních složek v něm. Jestliže je v úmyslu studovat chování a stabilitu pivní pěny, je nutné ji nejdříve pochopit z fyzikálního a chemického hlediska [1, 4, 5].

2.1 Pěna z fyzikálního hlediska

Pěna se třídí podle velikosti podílu plynné (disperzní) fáze v systému na málo koncentrované soustavy (Obr. 1a), kde bubliny jsou vzdáleny od sebe a mají malou dobu životnosti (sodovka, pivo, šampaňské), na vlhké pěny (bubliny mají kulovitý vzhled, jsou odděleny tlustší vrstvou disperzního prostředí a působením gravitace ztrácejí disperzní prostředí a stávají se z nich suché pěny, objem však zůstává nezměněný), a na suché pěny (Obr. 1c), které mají velký plynný podíl (více než 90 %), a díky tomu nemají již kulovitý vzhled ale tvar mnohostěnu, a bubliny tvoří spojitou stavbu [4, 5].



Obr. 1: (a) Zředěná soustava plyn-kapalina, (b) vlhká pěna, (c) suchá pěna [4]

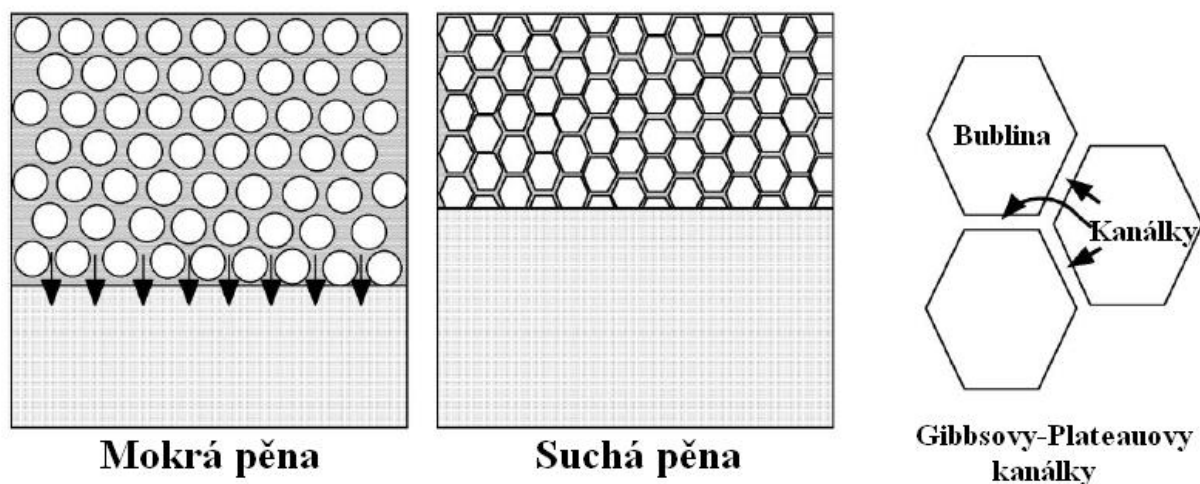
Dále se pěny dělí na statické a dynamické. V prvním případě je přívod disperzního podílu zrušen a pěna zmenšuje svůj objem. V druhé situaci je disperzní podíl kontinuálně dodáván takovou rychlostí, jakou se pěna rozpadá [4].

2.1.1 Suchá a mokrá pěna

Nejvýznamnějším parametrem, který charakterizuje pěnu, je kapalná frakce ϕ_l , jejíž maximální hodnota je 0,35, což odpovídá 35 % kapaliny obsažené v pění. Při této hodnotě se bubliny oddělují a statická rovnováha se ztrácí – vstupuje se do příslušného pole bublinové kapaliny. Rozdíl mezi suchou ($\phi_l < 0,15$) a mokrou pění je nanejvýš důležitý jak teoreticky, tak prakticky [5].

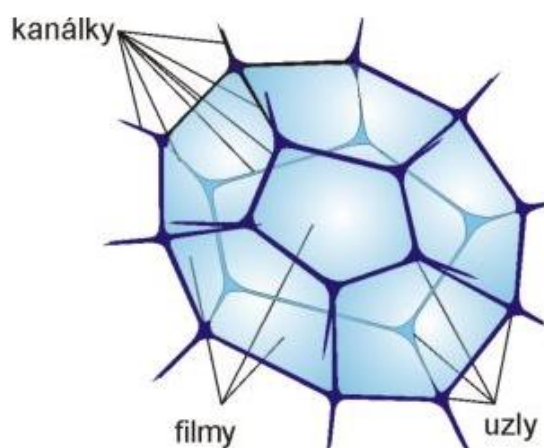
Za standardních podmínek je většina pěn ve statické rovnováze velmi suchá. Pokud je pěna v těsné blízkosti s kapalinou (jestli se v systému nějaká nachází), spadá do mokrého systému. V posledních letech se teorie a experimenty dostaly do fáze, kdy stabilní, statické, suché pěny

jsou dobře prostudovány, a to zejména v procesu odvodňování, disproportionace a reologie. Suchá pěna je proto vhodná k experimentům [5].



Obr. 2: Schéma mokré a suché pěny a Plateauových kanálků [3]

Suchou pěnu tvoří plynem zaplněné polyedrické buňky oddělené tenkými filmy disperzního prostředí a má uspořádání plástve (Obr. 2). Ideální vzhled buněk je pětiúhelníkový dvanáctistěn (Obr. 3). Jelikož tyto jednotky nejsou schopny spojitě vyplnit plochu, v reálné pěně se počet filmů obklopující buňku přibližuje ke čtrnácti [4].



Obr. 3: Ideální struktura suché pěny [4]

Tři stěny buněk pěny (nejlépe svírající úhel 120°), tvoří tzv. Gibbsovy-Plateauovy kanálky (Obr. 2), které jsou vyplněné disperzním prostředím. Tyto kanálky mají spletitý konkávní tvar povrchu a je v nich sledován výskyt kapilárních jevů. Pod zakřivenou plochou kanálku je v kapalině nižší tlak o Δp (Laplaceův tlak) a z plochých částí je odsávána kapalina do vydutých míst. Dochází k vytvoření toku kapaliny ve filmu pěny a přepážky se samovolně ztenčují. Čtyři Gibbsovy-Plateauovy kanálky ústí do uzlu, kde se dotýkají vrcholy sousedních polyedrů. Kanálky a uzly dohromady tvoří rozvětvenou soustavu. V tomto systému se může realizovat přenos disperzního systému (obzvláště stékání pomocí gravitace) [4].

2.2 Tvorba a rozpad pěny

Ronteltap a spol. se zabývali vznikem a rozpadem pěny a zkoumala ji z fyzikálního hlediska. Tento proces rozdělili do čtyř klíčových kroků – tvorbu bublin a jejich velikost, odvodňování pěny, její koalescenci a disproporcionaci [6]. V následujících podkapitolách jsou jednotlivé fáze pěny popsány podrobněji.

2.2.1 Tvorba pěny a velikost bublin

Pěna může být vytvořena kondenzační metodou (z přesycené kapaliny heterogenní nukleací), chemickou reakcí (instantní šlehačka, pивní pěna), anebo dispergováním plynu v kapalině za přítomnosti pěnidel (protřepávání, promíchávání, šlehání a protlačování plynu do kapaliny), kdy se velké bubliny mechanicky lámou na menší bublinky [4, 6].

Mezi nejvýznamnější mechanismus tvorby pěny patří heterogenní nukleace, kdy dochází k formování bublin nápoje, který je přesycen oxidem uhličitým, do tzv. nukleačních (katalytických) poloh – to znamená, že bublinky se tvoří na již existujících bublinách a nevznikají samovolně. Nukleační místo se může nacházet ve štěrbině stěny nádoby (různé škrábance, částčky) nebo může být způsobeno dávkováním kapaliny. Tyto nukleační polohy by ideálně měly být malé, aby byly tvořeny co nejmenší bubliny, které by vytvořily přijatelnou a vhodnou pěnu pro konzumenta [1, 3].

Bublina může nabývat konkávního nebo konvexního povrchu. V prvním případě je její povrch smáčen okolní kapalinou v „trhlíně“ a bublina se snaží mít co nejmenší plochu. Tlak plynu v nitru je větší než v hraniční kapalině a bublina následně praskne. Plyn se začne rozpouštět v kapalině a inaktivuje se nukleační poloha. Jestliže povrch bubliny není smáčen okolní kapalinou, jedná se o konvexní povrch. Plyn se přepravuje z přesycené kapaliny do nukleační polohy a dochází k růstu bublin. Jelikož vnitřek bubliny má nízký Laplaceův tlak (800 Pa při poloměru 0,1 mm) oproti přesycenému pivu (0,3–0,4 MPa) dochází k přenosu plynu z piva do bubliny pomocí difúze. Proto se někdy místo CO₂ používá dusík s nižším parciálním tlakem, který tvoří menší bublinky, anebo směs těchto plynů [7].

Faktory, které ovlivňují velikost bublin, jsou popsány v rovnici [7]:

$$\text{Poloměr bublin} = [3 \cdot R_m \cdot \gamma / 2 \cdot \rho \cdot g]^{1/3}, \quad (1)$$

kde

R_m je poloměr nukleační polohy (m),

γ je povrchové napětí (mN·m⁻¹),

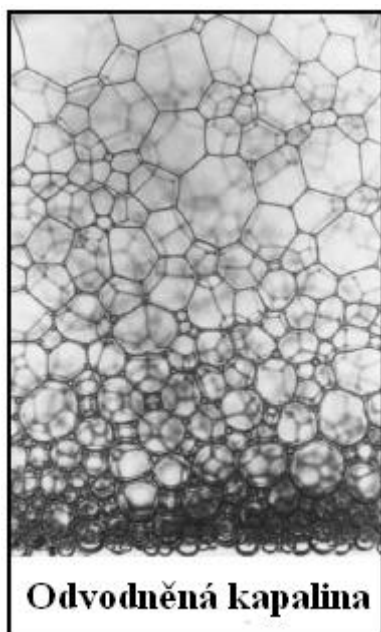
ρ je relativní hustota (kg·m⁻³),

g je gravitační konstanta (9,8 m·s⁻²).

Pokud je dosažena co nejmenší nukleační poloha, budou také co nejmenší velikosti bublin. Tato rovnice je též platná pro měření velikosti bublin v pивní pěně. Díky nízkému povrchovému napětí piva (od 42,8 do 47,0 mN·m⁻¹) má pěna malé a jednotné velikosti bublin, které vytvářejí krémovitý charakter pěny žádoucí u spotřebitele, nejlépe trvající po celou dobu konzumace [7].

2.2.2 Odvodňování pěny

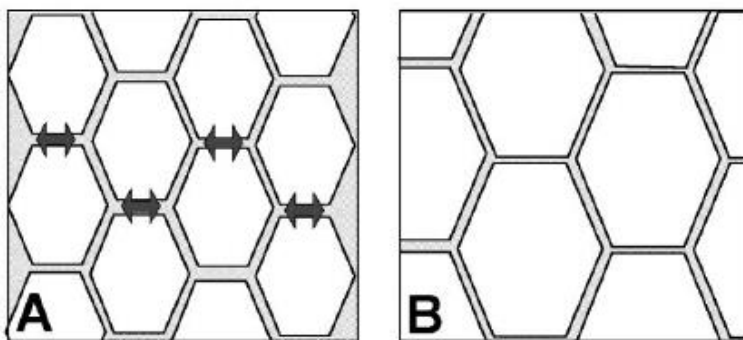
Při odvodňování se ztrácí kapalina z pěny působením gravitace a podtlaku. Dochází k tomu, že díky tzv. Plateau kanálovému podtlaku se kapalinové filmy mezi bublinami ztenčují a dochází ke zhroucení bublin. Odvodňování ovlivňuje viskozita piva, kapilární účinky a viskozita povrchu piva [6]. Tento jev může být snížen látkami s hydrofobním profilem anebo složkami zvyšující viskozitu [1, 3].



Obr. 4: Kapalina po odvodňování [8]

2.2.3 Koalescence

Když se kapalinové filmy ztenčují mezi bublinami, může dojít k jejich prasknutí a následnému spojení dvou menších bublin za vzniku jedné velké, méně stabilní a méně přitažlivé bubliny. Tomuto jevu, koalescenci, značně napomáhají vysoce hydrofobní látky, jako například lipidy, olejovité pochutiny (křupky), rtěnka, čisticí prostředek nebo špinavé sklo. Jejich dopad může mít katastrofální účinek na stabilitu pěny piva. Tyto děje jsou známy jako mechanismus hydrofobních částic (vliv lipidů) nebo mechanismus šíření částic (účinek detergentů) [1, 3, 6].



Obr. 5: Schéma koalescence bublin [3]

2.2.4 Disproporcionace a zánik pěny

Disproporcionace, známá také jako Ostwaldovo zrání, je děj, při kterém dochází k difuzi plynu mezi bublinami. Během tohoto procesu plyn z menších bublin s větším (Laplaceovým) tlakem difunduje do větších bublin s nižším Laplaceovým tlakem. Tudíž menší bubliny zanikají a větší bubliny se stanou ještě většími. Jelikož difuze plynu je důležitým faktorem v disproporcionaci, lze předpokládat přínos plynného dusíku pro stabilitu pěny, protože má nižší rozpustnost v porovnání s oxidem uhličitým [1, 8].

Disproporcionace je vyjádřena pomocí rovnice podle De Vries [7]:

$$r_t^2 = r_0^2 - \frac{4 \cdot R \cdot T \cdot D \cdot S \cdot \gamma \cdot t}{p \cdot \theta} \quad (2)$$

kde

r_t je poloměr bubliny v čase t ,

r_0 je poloměr bubliny na začátku,

R je plynová konstanta ($8,3 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$),

T je termodynamická teplota (K),

D je koeficient plynové difuze ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$),

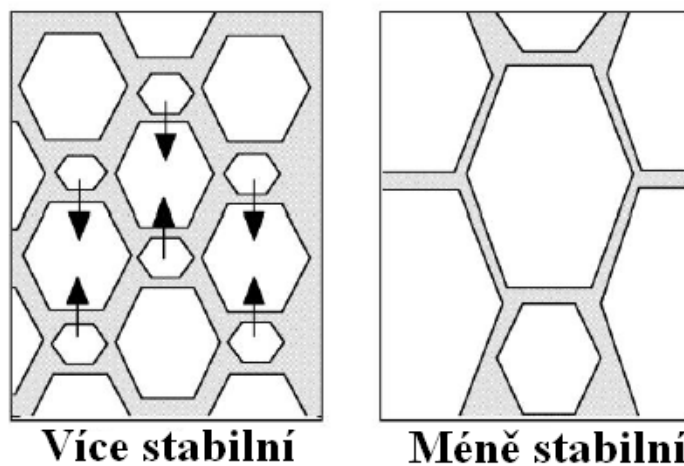
S je rozpustnost plynu ($\text{mol} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{Pa}^{-1}$),

γ je povrchové napětí,

t je čas (s),

p je tlak (Pa),

θ je tloušťka filmu mezi bublinami.



Obr. 6: Schéma disproporcionace pěny [3]

Nejvýznamnějšími faktory, které brání kolapsu bubliny během disproporcionace, jsou obsah plynu a tloušťka bublinového filmu. Tyto vlivy jsou pak primárně ovlivňovány rychlostí odvodňování, ale také povrchově aktivními látkami, které vstupují do stěny bubliny, a která působí tak, aby zachovala neporušenost filmu [1, 3].

2.3 Stabilita pěny

Pro vytvoření stabilní pěny je nezbytný výskyt pěnotvorných činidel. Ty tvoří stabilizující film okolo částic disperzního podílu. Nejvíce stabilitu určují vlastnosti povrchových filmů a disperzního prostředí [4].

Významnými faktory, ovlivňující stabilitu pěny, jsou:

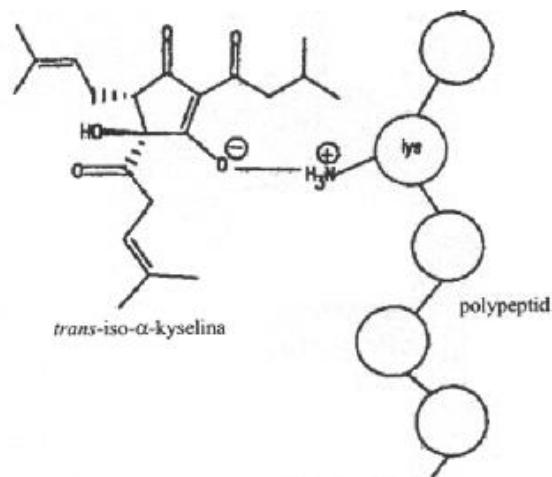
- závislost povrchového napětí roztoku na koncentraci povrchově aktivní látky,
- pružnost, stálost a soudružnost stabilizujícího filmu,
- pěnotvorná činidla,
- tloušťka přepážek mezi buňkami,
- viskozita disperzního prostředí,
- elektrický náboj povrchového filmu,
- hodnota tlaku nasycené páry disperzního prostředí nad penou.

Změna povrchového napětí s koncentrací musí mít postačující zápornou hodnotu, aby roztok v přepážkách zareagoval žádoucími změnami povrchového napětí na mechanické vlivy. Jestliže je přepážka protažena, tak dojde ke zvětšení jejího povrchu a zvýšení povrchového napětí, ale ke snížení koncentrace povrchově aktivní látky adsorbované ve vnější vrstvě příčky. Pokud je zvýšení přijatelně velké, postačí nahradit vliv síly protahující přepážku. Jestli je přepážka stlačena, reaguje roztok obráceně. Z toho vyplývá, že jestli je změna povrchového napětí s koncentrací maximální, tak stálost pěny je největší při složení, a ne při koncentraci. U tohoto účinku má velký význam rychlost difuze povrchově aktivní látky z Gibbsových-Plateauových kanálků do povrchové vrstvy filmu a zpět. Jedná se o tzv. Gibbsův-Marangoniho efekt [4].

Pěnotvorná činidla se v pěně shromažďují na fázovém rozhraní kapalina/plyn a tvoří tady stabilizující film, který by měl být stálý, pevný a pružný. Pokud nastanou nějaké mechanické vlivy, musí vytvořený film být způsobilý zareagovat velkou změnou povrchového napětí roztoku. Důležitou vlastností je také rychlost difuze pěnotvorné látky z Gibbsových-Plateauových kanálků do přepážek mezi bublinami a zpět. Toto podporuje udržení jejich přijatelné šířky. Mezi povrchově aktivní látky patří mýdla, detergenty, bílkoviny, saponiny, polymery a další [4].

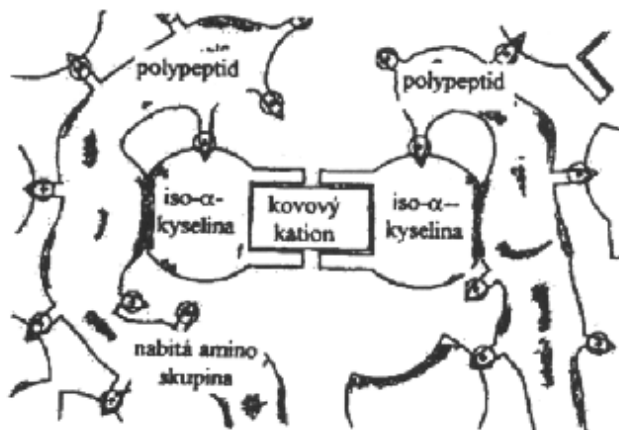
2.4 Pivní pěna

Pivní pěna patří mezi hlavní znaky piva ovlivňující hodnocení jeho kvality. Má hlavně vizuální vliv na konzumenta, ale také je důležitá z hlediska ochrany látek obsažených v pivu před oxidací a jejich znehodnocením. Její strukturou a studií se zabýval tým japonských vědců [9] z roku 1976. V této struktuře pivní pěny je stabilita popsána jako přitažlivé působení mezi záporně nabitými chmelovými iso- α -kyselinami a kladně nabitými aminoskupinami v polypeptidech pěny (Obr. 7). Jestliže je provedena acetylace pěnových polypeptidů (vede ke ztrátě kladného náboje na aminoskupinách), nedochází přidáním α -hořkých kyselin ke zvýšení pěnivosti. Dospělo se k závěru, že vazby mezi iso- α -kyselinami a polypeptidy jsou iontové povahy [4].



Obr. 7: Struktura píví pění podle Asana a Hashimota [9]

Tento vzor však nevysvětluje řadu jevů spojených s pěnívostí, stabilitou pění při měnícím se pH a schopnost neizomerovaných iso- α -hořkých kyselin podporovat stabilitu píví pění. Proto byl vytvořen další model píví pění (viz Obr. 8) [10].



Obr. 8: Model struktury píví pění podle Simpsona et al. [10]

Tato struktura pění vychází z toho, že nejméně dvě molekuly iso- α -kyseliny jsou vázány přes dvojmocný kationt kovu. Tím se zvyšuje její afinita k vazbě na aminoskupinu polypeptidů. Kovové kationty mají schopnost se vázat na ionizovanou i neionizovanou formu, a proto nemusí být hořké chmelové kyseliny ionizovány. Vazebné síly spojující pěnové polypeptidy nemají iontovou povahu. I když není potřeba přítomnosti záporného náboje u iso- α -kyselin pro navázání na kladný náboj aminoskupiny polypeptidu, je tento náboj důležitý pro interakci polypeptidu s molekulami vody [10, 11].

2.5 Měření pěnívosti piva

Analytické hodnocení píví pění je komplikované kvůli rozmanitosti vizuálních znaků, které určují kvalitu pění. Jelikož není určena jednotná metoda pro zhodnocení pěnívosti, je nutné měřit více aspektů pro stanovení kvality pění piva. Tato klasifikace zahrnuje stabilitu, množství, ulpívání, bělost, „krémovitost“. Je potřeba také přihlížet na to jakým způsobem, a jakou rychlostí je pivo naléváno do sklenice [12]. Kvůli těmto parametrům je nemožné umožnit ucelené vyhodnocení kvality pění pro jednotlivá měření. Konečný výsledek tedy

závisí na hodnotícím expertu. Avšak tato vyhodnocení jsou drahá, nepraktická a podléhají jisté zaujatosti založené na pohlaví, věku, socio-ekonomickém pozadí a geografii [13–15].

Tab. 1: Přehled metod měření pěny u piva [3]

Metoda měření kvality pěny	Stav piva ^a	Tvorba pěny	Měření pěny	Základní měřítko
Hodnotící experti	zplyněné	nalévání nebo čepování	„okometricky“	kombinované
Blom	odplyněné	napěnění CO ₂	odvodňování	stabilita
Ross a Clark	odplyněné	nalévání	odvodňování	stabilita
Rudin	odplyněné	napěnění CO ₂	odvodňování	stabilita
Mikro měřítko	-	homogenizátor	odvodňování	stabilita
Lg Automatic	zplyněné	napěnění CO ₂	odvodňování	stabilita
NIBEM	zplyněné	CO ₂ , problikávání	kolaps pěny ^b	stabilita
Konstantní nalévání	zplyněné	nalévání	kolaps pěny ^c	stabilita
Nalévání do válce	zplyněné	nalévání	rychlost	stabilita
Třepání	odplyněné	třepání	kolaps pěny	stabilita
Ulpívání pěny na skle	odplyněné	napěnění CO ₂	množství kroužků na skle ^d	ulpívání

^aZplyněné = sycené CO₂ nebo dusíkem, odplyněné = odstranění plynu z piva před měřením

^bKolaps pěny měřen elektrodou.

^cKolaps pěny měřen pomocí digitálního zařízení.

^dSpektrofotometrické měření množství pěny, která ulpí na skle.

Nejčastěji používané metody pro stanovení a výzkum kvality pěny piva jsou NIBEM, index ulpívání, udržení pивní pěny podle Rudina nebo měření stability pěny podle Rosse a Clarka [3].

Měření se rozděluje také podle toho, jaký parametr pěny je měřen (pokles povrchu pěny, vodivost, průchod světla, doba rozpadu, atd.) [2].

2.5.1 Měření poklesu povrchu pěny

Toto měření stability pěny piva, např. NIBEM, sleduje vodivostní měřidlo pokles povrchu pěny v čase a vyhodnocení jsou zaznamenána jako závislost výšky pěny v čase. Pivo je napěněno pomocí trysky v nádobce do určité výšky. Poté je měřen čas, kdy pěna klesne o určitou vzdálenost (10, 20, 30 mm). Novější verze těchto přístrojů jsou doplněny o další údaje, jako je barometrický tlak, teplota a vlhkost vzduchu [16–19].

Pomocí poloautomatického měřiče je pivo napěňováno tryskou, ultrazvukem nebo svržením z nálevky. Zařízení má světelnou a zvukovou indikaci vodivostního čidla s povrchem pěny. Je zde nutný ruční posun elektrod a odečet hodnot ze stupnice. Pokud je povrch pěny nerovný, je potřebné vyrovnat nádobku otočením [20].

Dále může být pozorován povrch pěny pomocí senzoru se soustavou měřicích jehel. Kapalina je zpěněna anebo míchána pomocí speciálního rotoru za vzniku pěny. Jedná se o automatický přístroj SITA [16].

2.5.2 Měření vodivosti pěny

Toto stanovení probíhá v konduktometrické komůrce, která je ponořená do pěny. Je měřena změna vodivosti pěny během jejího kolapsu [16, 21].

2.5.3 Průchod světla pěnou

Velké množství optických přístrojů stanovuje průchod světla pěnou ve svislém směru. Jestli je ustanovena postačující intenzita procházejícího světla, je měření u konce a je odečtena doba rozpadu pěny. Fotoelektrická zařízení mají buď spodní zdroj světla, který je umístěn vespod nádoby s fotočlánkem ve víku a je měřena doba proniknutí světla pěnou, anebo horní zdroj světla (60 W žárovka) s fotočlánkem pod nádobou. V druhém případě je měřen čas proniknutí světla pěnou na dno nádoby [16, 22, 23].



Obr. 9: Aparatury pro měření stability pěny [3, 24, 25]

2.5.4 Měření pohybu rozhraní mezi kapalnou fází a pěnou piva

Zatímco předchozí metoda měřila průchod světla ve svislém směru, tato metoda stanovuje průchod světla ve vodorovné poloze kolmo k nádobce s pěnou. Tyto přístroje mají dva a více optických detektorů, které registrují pohyb rozhraní mezi pivem a pěnou a mají předem vymezené vzdálenosti měření [16].

Přístroj Lg Automatic sestává ze skleněného válce, kdy je do něho pivo vnášeno pomocí trysky a je vytvořena hustá pěna. Infračervená čidla měří hladinu piva mezi dvěma ryskami a z hodnot je vypočten poločas rozpadu pěny. Výhodou tohoto přístroje je přívod vody usnadňující vymývání válce a nastavení doby napěňování ventilem [16, 26].

Dále je také rozpad pěny pozorován diodovým polem, kdy je kapalina napěněna určeným objemem plynu. Je měřen pohyb obou rozhraní pěny se vzduchem a pivem. Výhodou tohoto měření je, že přístroj umí rozlišovat suchou a mokrou pěnu [16, 27].

2.5.5 Měřiče s digitální kamerou

Měření je zaznamenáváno pomocí kamer, které celé stanovení nahrávají. Je získán digitální záznam pohybu povrchu pěny i meze pěny, vzduchu a piva, a ten je pak zpracován speciálním softwarem.

Pokud je stabilita pěny měřena digitální kamerou, je odplyněné pivo napěněno třepáním v atmosféře oxidu uhličitého a je evidován pohyb rozmezí pěny a piva podle 12 snímků napěněného piva. Je proměřena výška pěny a jsou vypočteny hodnoty poločasu rozpadu pěny, stékání piva a potenciál pěnivosti [16, 28].

Jestli je použito laserové zařízení, je změřen pokles pěny podle odrazu laserového paprsku. Dále je měřena rychlost procházení bílého světla křemenné lampy pěnou. Výsledkem je vyobrazení poklesu pěny a její výška [16, 29].

Pozorování vzniku mikrobublinek je uskutečněno pomocí digitální kamery, kdy je pivo napěněno pomocí trysky a je vyhodnocena rychlost vzniku bublin a změna jejich velikosti a tvaru v čase [30]. Dále se pomocí digitální kamery pozoruje vzhled pěny po 30 s rozpadu od počátku ručního nalití piva do nádoby. Je vyhodnoceno množství pěny, rychlost jejího rozpadu, velikost bublin, tvorba kroužků (ulpívání) a rozdělení bublin [16, 31].

2.6 Faktory ovlivňující pěnivost

Kvalita pивní pěny je výsledkem interakcí velkého množství faktorů. Změny v každém z nich mohou způsobit obrovské rozdíly v kvalitě pěny a to jak pozitivní, tak negativní (hegarty). Pivo obsahuje takové látky, které jsou pro pěnu nepostradatelné (hořké chmelové látky, bílkoviny, ad.) anebo takové, které působí na ni negativně (lipidy, ethanol). Dalším faktorem ovlivňujícím pěnivost piva může být působení nižších teplot, které má za následek zvýšení viskozity piva a zpomalení odvodňování pěny, což snižuje kinetiku rozpadu pěny [1, 13].

2.6.1 Látky pozitivně ovlivňující pěnivost piva

Látky, které mají kladný vliv na tvorbu pěny, se hromadí v mezifázovém prostředí a posilují povrchovou blanku bubliny mezi kapalinou a pěnou. Jedná se o látky, které jsou amfifilní. Mají hydrofobní část, která míří do plynné fáze pěny, a hydrofilní, která směřuje do kapalné fáze. Látky s pozitivním účinkem na pěnu jsou určité bílkoviny a polypeptidy, hořké chmelové látky, kovové ionty (Mn^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} a Al^{3+}), polysacharidy a oxid uhličitý [1].

Bílkoviny patří mezi hlavní komponenty, které ovlivňují stabilitu pěny. Mají hydrofobní strukturu a podle toho byly rozčleněny pomocí hydrofobní interakční chromatografie na frakce podle specifické hmotnosti. Podle molekulové hmotnosti byly rozděleny na High Molecular Weight (HMW, s molekulovou hmotností 35–50 kDa) a Low Molecular Weight (LMW, s molekulovou hmotností 5–15 kDa) bílkoviny. HMW zahrnují protein Z a do LMW se řadí Lipid Transfer Protein I a směs hordeinových a glutelinových fragmentů. Jednotný rys

těchto látek je jejich odolnost při vysokých teplotách, extrémním hodnotám pH a proteolýze [1, 3]

Dalšími látkami, které ovlivňují pěnivost kladně, jsou hořké chmelové látky, které vznikají při isomeraci α -kyselin při chmelovaru. Jedná se o iso- α -hořké kyseliny – *cis*- a *trans*- formy isohumulonu, isokohumulonu a isoadhumulonou. Dále zde patří jejich oxidované formy ovlivňující pozitivně přilnavost pěny (způsobílost pěny ulpívat po rozpadnutí na stěně sklenice). Hydrogenované formy zvyšují hydrofobicitu, a pokud je jejich množství přebytné, vznikají atypické a nevzhledné pěny [1, 3].

Ionty kovů hrají při tvorbě pěny důležitou roli, neboť podle modelu struktury pивní pěny jsou proteiny propojeny přes hořké chmelové látky a dvoumocné kationty. Ty mají vyšší afinitu k hořkým kyselinám než jednomocné. Pokud je však obsah těžkých kovů (Sn, Ni, Fe) v množství $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, mohou způsobit samovolné přepěňování piva [1].

Polysacharidy zlepšují stabilitu pивní pěny tím, že zpomalují proces odvodňování pěny. Zesilují plnost chutě a viskozitu. Neštěpitelné sacharidy (β -glukany a pentozany) ovlivňují pěnivost piva. Pokud ovšem je obsah těchto látek vysoký, mají negativní vliv v technologii při scezování a filtraci. Dále sem patří melanoidiny a glykosylované bílkoviny, které podporují pěnivost díky vazbě s bílkovinami při tvorbě základu pěny. Podobné působení na pěnu má propylenglykolalginát, který svou vazbou s bílkovinami ve stěnách bublin snižuje kontakt s nežádoucími lipidy, zabraňuje odvodňování a zvyšuje hydrofobicitu proteinů piva. Pro však velké tvoření zákalu v pивu se tento polysacharid ve větší míře nepoužívá (zejména v Německu) v souladu se zákonem o čistotě piva (tzv. Reinheitsgebot – bavorský zákon o čistotě piva. Tento zákon stanovuje, že pivo může být uvařeno pouze z chmele, vody a ječmene.) [1, 3, 32].

2.6.2 Látky negativně ovlivňující

Pivo obsahuje také látky, které působí na pěnu negativně. Ty způsobují, že pěna je nestabilní, nerovnoměrná a nevzhledná. Látky působí tak, že zabraňují tvorbu pěny, snižují viskozitu a zvyšují povrchové napětí. Patří zde lipidy, ethanol, bazické aminokyseliny, proteasy, polyfenoly a některé kovové ionty (Cu, Ni, Cd, Pb) [1].

2.7 Biosurfaktanty

Biosurfaktanty lze definovat jako povrchově aktivní biomolekuly produkované mikroorganismy se širokým spektrem aplikací. V posledních letech tyto povrchově aktivní biomolekuly vzbuzují zájem díky svým jedinečným vlastnostem, mezi které patří specifita, nízká toxicita a relativní snadnost přípravy [33].

Biosurfaktanty jsou používány pro zvýšení povrchové plochy hydrofobních substrátů, ke zvýšení biologické dostupnosti hydrofobních substrátů prostřednictvím solubilizace/desorpce, pro schopnost regulace připojení a odstranění mikroorganismů z povrchů a také pro schopnost zvýšení transportu živin přes membrány. Tyto látky mají jak hydrofilní, tak hydrofobní oblasti, které způsobují, že agregují na rozhraních mezi kapalinami s různými polaritami (např. uhlovodíky a voda), a proto snižují mezifázové povrchové napětí [33–36].

Ve srovnání s chemickými či syntetickými povrchově aktivními činidly mají biosurfaktanty několik výhod. Jedná se o biologickou rozložitelnost, biokompatibilitu a stravitelnost. Mohou být proto využity při čištění životního prostředí (biodegradace a detoxikace průmyslových odpadních vod) a při bioremediaci kontaminované půdy [33].

Díky jejich specifičnosti, vlastnostem a dostupnosti jsou biosurfaktanty považovány za nejvýhodnější povrchově aktivní látky [33, 37].

2.7.1 Vlastnosti

Tyto látky jsou jedinečné a odlišné od syntetizovaných protějšků. Charakteristické rysy biosurfaktantů souvisí s jejich povrchovou aktivitou, tolerancí k pH, teplotní a iontovou silou, biologickou rozložitelností, nízkou toxicitou, emulgačními a deemulgačními schopnostmi a antimikrobiální aktivitou [33, 38]. Některé vlastnosti jsou popsány níže.

2.7.1.1 Povrchová aktivita a aktivita na rozhraní

Povrchově aktivní látky pomáhají snižovat povrchové napětí a mezifázové napětí. Všeobecně jsou biosurfaktanty více účinnější a schopné, a jejich kritická micelární koncentrace (KMK) je několikrát menší než chemické povrchově aktivní látky, tj. pokud chceme maximální snížení povrchového napětí, je zapotřebí menší množství surfaktantu [39].

Surfaktin, sekundární metabolit produkovaný bakterií *Bacillus subtilis*, může snížit povrchové napětí vody na $25 \text{ mN} \cdot \text{m}^{-1}$ (povrchové napětí čisté vody je $73 \text{ mN} \cdot \text{m}^{-1}$) [40].

2.7.1.2 Tolerance teploty a pH

Většina biosurfaktantů a jejich povrchová aktivita je resistentní vůči faktorům z prostředí, jako jsou teplota a pH. Toto má za následek velkého zájmu ze strany komerce, protože průmyslová odvětví využívají extrémní podmínky (teplota, tlak a pH), je potřeba izolovat nové mikrobiální produkty, které jsou schopné fungovat za těchto podmínek (extrémofily) [33, 41].

Mezi takové biosurfaktanty patří lichenysin (produkovaný bakterií *Bacillus licheniformis*), který je odolný vůči teplotě do 50°C a pH v rozmezí 4,5 – 9. Biosurfaktant produkovaný *Arthrobacter protophormiae* je také termostabilní ($30\text{--}100^\circ\text{C}$) a pH stabilní (2–12) [42].

2.7.1.3 Biologická rozložitelnost

Povrchově aktivní biomolekuly produkované mikroorganismy mohou být snadno degradovány v porovnání se syntetickými povrchově aktivními látkami. Jsou vhodné pro aplikace v životním prostředí, jako je například bioremediace (přeměna toxické či rizikové látky na netoxickou či nerizikovou látku) a biosorpce (schopnost „neživých“ částí buněk vázat na sebe těžké kovy). Větší zájem o životní prostředí proto vyvolává snahu o hledání alternativ v podobě biosurfaktantů [43, 44].

2.7.1.4 Nízká toxicita

Biosurfaktanty jsou obecně považovány za málo toxické nebo netoxické produkty, které jsou vhodné pro farmaceutické, kosmetické a potravinářské účely.

Díky nízkému profilu toxicity biosurfaktantů, soforolipidů z *Candida bombicola*, se využívají tyto látky v potravinářských oblastech [45].

2.7.1.5 *Antiadhezivní činidla*

Jako biofilm lze popsat skupinu bakterií či jiných organických látek, které se nahromadily na jakémkoliv povrchu. Důležitý faktor při vzniku biofilmu je přilnavost bakterií na povrchu, která je ovlivněna různými vlivy, jako jsou typ mikroorganismu, hydrofobnost, elektrický náboj na povrchu, environmentální podmínky a schopnost mikroorganismů produkovat extracelulární polymery [33, 46, 47].

Biosurfaktanty mohou být použity při změně hydrofobnosti povrchu, což ovlivňuje adhezi mikrobů na povrchu. Surfaktant z bakterie *Streptococcus thermophilus* zpomaluje kolonizaci jiných termofilních kmenů *Streptococcus* přes ocel, která je zodpovědná za znečištění. Biosurfaktant z bakterie *Pseudomonas fluorescens* inhiboval připojení *Listeria monocytogenes* na ocelový povrch [33, 38, 47].

2.7.2 Typy biosurfaktantů

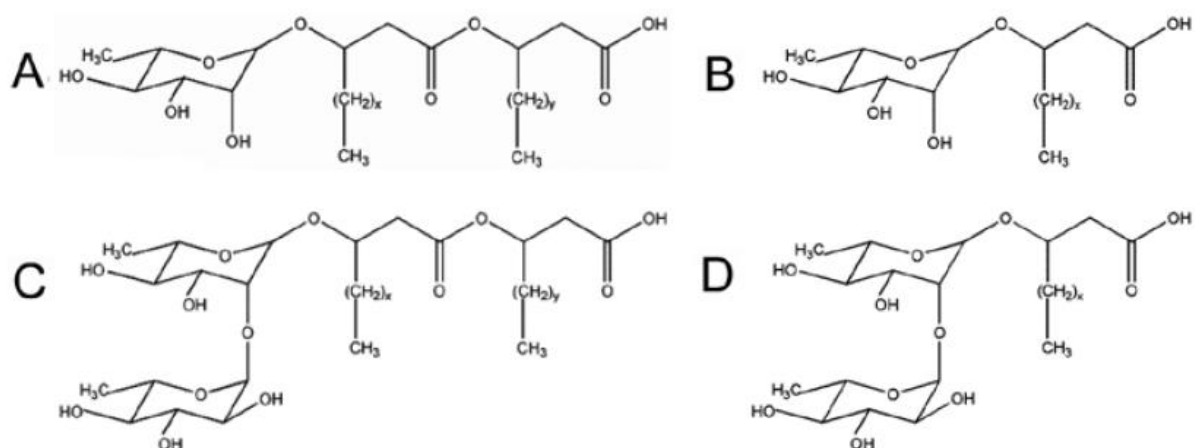
Chemicky syntetizované povrchově aktivní látky jsou většinou děleny podle jejich polarit. Naproti tomu biosurfaktanty jsou klasifikovány podle svého mikrobiálního původu a chemického složení. Dělí se na glykolipidy, fosfolipidy a mastné kyseliny, lipopeptidy a lipoproteiny, polymerní biosurfaktanty a biosurfaktanty z částic [33]. V následujících podkapitolách jsou jednotlivé druhy popsány podrobněji.

2.7.2.1 *Glykolipidy*

Biosurfaktanty jsou převážně glykolipidy. Jsou to sacharidy spojené s alifatickými kyselinami nebo hydroxyalifatickými kyselinami esterovou vazbou. Mezi nejznámější glykolipidy patří rhamnolipidy, trehalolipidy a soforolipidy [33].

Rhamnolipidy

Rhamnolipidy, převážně krystalická kyselina, jsou složeny z β -hydroxy mastné kyseliny spojené karboxylovým koncem rhamnozového cukru. Rhamnolipidy jsou primárně produkovány *Pseudomonas aeruginosa* a jsou klasifikovány jako mono- a dirhamnolipidy. Dalšími druhy *Pseudomonas* produkující rhamnolipidy jsou: *P. chlororaphis*, *P. plantarii*, *P. putida* a *P. fluorescens*. Je známo, že některé bakterie produkují pouze monorhamnolipidy, zatímco některé produkují obojí [33, 48].



Obr. 10: Čtyři obecné chemické struktury rhamnolipidů produkovaných druhu *Pseudomonas*[48]

V průběhu let se rhamnolipidy postupně stávají hrozbou pro syntetické povrchově aktivní látky a jsou široce relevantní v různých průmyslových odvětvích. Vykazují vynikající emulgační vlastnosti, účinně odstraňují surovou ropu z kontaminované půdy a usnadňují bioremediace ropných skvrn. Mají nízkou toxicitu, povrchově aktivní vlastnosti a antimikrobiální účinky vůči MO *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, aj. Díky tomu mohou být rhamnolipidy aplikovány ve farmacii a léčbě [33, 50, 51].

Rhamnolipidy jsou aplikovány ve zdravotnickém a kosmetickém průmyslu, kde se používají k ošetření kůže při hojení ran, redukci vrásek. Dále mají široké využití jako přírodní emulgátory a povrchově aktivní látky v pracích prostředcích, šamponech a mýdlech [33, 49].

V zemědělství jsou tyto látky využívány pro zlepšení kvality půdy a eliminaci rostlinných patogenů, pro podporu vstřebávání hnojiv a živin skrze kořeny a jako biopesticid [52].

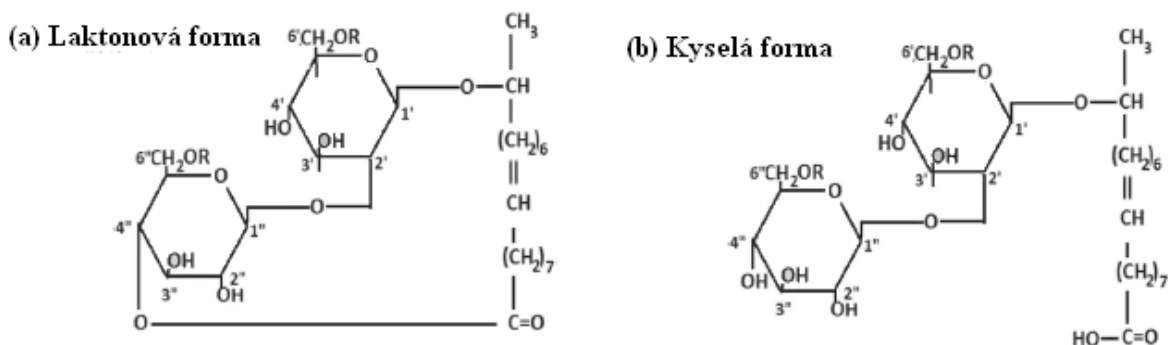
Soforolipidy

Soforolipidy jsou jedny z nejvíce studovaných a slibných biosurfaktantů produkovaných nepatogenními mikroorganismy (*Starmerella bombicola*, *Candida riodecensis*, ad.). Byly identifikovány v roce 1961 a přitahují pozornost v mnoha různých oblastech jako multifunkční materiály. Mezi různými biologickými aktivitami, které soforolipidy vykazují, jsou baktericidní, fungicidní, virucidní, protinádorové a protizánětlivé schopnosti [54, 55].

Sestávají z dimerní sacharidové soforózy s dlouhým řetězcem hydroxylových mastných kyselin spojených glykosidovou vazbou. Obvykle jsou produkovány ve formě směsi molekul strukturně příbuzných. Tato směs může být tvořena až 40 různými typy soforolipidů s přidruženými isomery [56, 57]. Tato široká strukturální variace souvisí s mnoha faktory [58]:

- Hydroxylová skupina C6' a C6'' soforózy může být deacetylovaná, monoacetylovaná nebo diacetylovaná.
- Mohou být produkovány v laktonové a kyselé formě.
- Velikost uhlíkového řetězce mastné kyseliny se obvykle pohybuje mezi C16 a C18.
- Mastné kyseliny mohou být nasycené, mononenasycené a polynenasycené.
- Je zde přítomnost stereoisomerů.

Soforolipidy jsou sekundární metabolity, a proto nejsou podstatné pro růst, vývoj a reprodukci kvasinek. Lze je považovat za extracelulární materiál pro ukládání uhlíku a umí se přizpůsobit vysokému osmotickému tlaku vyplývajícího ze zvýšené koncentrace cukru [59]. Jejich biocidní aktivita proti mikroorganismům může vykonávat funkci jako mezidruhový konkurenční mechanismus přežití. Soforolipidy jsou produkovány kmeny *Candida riodecensis*, *Candida stellata*, *Starmerella bombicola*, *Candida apicola*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Pseudohyphozyma bogoriensis*, ad. [60].



Obr. 11: Různé formy soforolipidů – laktonová a kyselá forma [60]

Vzhledem k tomu, že se soforolipidy vyrábí jako směs kyselé (Obr. 11a) a laktonové formy (Obr. 11b), jejich vlastnosti a aplikace přímo souvisejí s těmito formami. Laktonové formy mají lepší biocidní aktivity, jsou prozánětlivé a více hydrofobní. Kyselé formy patří mezi lepší pěnicí činidla, mají vyšší rozpustnost ve vodě a mohou být lépe využity v potravinářském průmyslu, bioremediaci a kosmetice [60].

Stejně jako rhamnolipidy mají soforolipidy velké využití v mnoha průmyslových odvětvích. Používají se v různých výrobcích pro domácnost. Dále jsou soforolipidy využívány v kosmetickém průmyslu díky svým vynikajícím emulgačním a antibakteriálním vlastnostem. Působí pozitivně proti akné, lupům a tělesným pachům. Mohou být aplikovány v obvazech na rány, aby se zvýšila propustnost plynu [60].

Soforolipidy vykazují inhibiční aktivity proti specifickým organismům, například proti rostlinným patogenním houbám *Phylophthora sp.*, *Pythium sp.* a *Botrytis cinerea* [61]. Patří mezi emulgátory, které mohou zlepšit kvalitu produktů z pšeničné mouky. Emulgační vlastnosti soforolipidů mohou být také použity v ropném průmyslu, zejména při sekundárním získávání oleje a při odstraňování uhlovodíků z vrtného materiálu. Jsou užitečné při dekontaminaci půd a vod a při likvidování těžkých kovů ze sedimentů [56].

Trehalolipidy

Podobně jako jiné glykolipidy jsou i trehalolipidy složeny ze sacharidové skupiny v kombinaci se skupinami mastných kyselin. Jejich hydrofobní skupiny jsou různorodější, včetně alifatických kyselin a hydroxylovaných mastných kyselin s rozvětveným řetězcem (kyseliny mykolové) s různou délkou řetězce. Tyto glykolipidy jsou spojeny s většinou druhů *Mycobacterium*, *Nocardia* a *Corynebacterium* [56, 62].

2.7.2.2 *Lipoproteiny a lipopeptidy*

Tyto biosurfaktanty se skládají z lipidu připojeného k polypeptidovému řetězci. Několik těchto povrchově aktivních látek má antimikrobiální účinek proti různým bakteriím, řasám, houbám a virům. Iturin, který je produkován bakterií *Bacillus subtilis*, má antibakteriální vlastnosti a je aktivní i po autoklávování, pH 5–11 a s životností 6 měsíců při -18 °C [56, 63].

Surfaktin

Cyklický lipopeptidový surfaktin je jedním z nejúčinnějších biosurfaktantů složených ze sedmi aminokyselinových kruhových struktur vázaných na řetězec mastných kyselin prostřednictvím laktonové vazby. Surfaktin snižuje povrchové napětí a mezifázové napětí vody. Vykazuje významné inaktivační účinky vůči retrovirům a herpesu [56].

Lichenysin

Bakterie *Bacillus licheniformis* produkuje několik biosurfaktantů, které vykazují vynikající stabilitu při extrémních teplotách, pH, které jsou podobné povrchově aktivní látce. Stejně jako surfaktin, je lichenysin schopný snížit povrchové napětí a mezifázové napětí vody [56, 64].

2.7.2.3 *Mastné kyseliny, fosfolipidy a neutrální lipidy*

Několik bakterií a kvasinek produkuje velké množství mastných kyselin a fosfolipidových povrchově aktivních látek během růstu na n-alkanech. V *Acinetobacter spp.* jsou produkovány vezikuly, které tvoří opticky čiré mikroemulze alkanů ve vodě. Tyto biologicky aktivní látky (fosfolipidový proteinový komplex) jsou potřebné v medicíně. Jejich deficit způsobuje hlavní příčinu selhání dýchání u předčasně narozených dětí [56].

2.7.2.4 *Polymerní biosurfaktanty*

Jedná se o nejlépe prostudované biosurfaktanty. Do této skupiny povrchově aktivních látek patří emulsan, liposan, alasan, lipomanan a další komplexy polysacharid-protein. Liposan je extracelulární ve vodě rozpustný emulgátor, je produkován bakterií *Candida lipolytica* a je složen ze sacharidů (83 %) a proteinů (17 %). Tento biosurfaktant je využíván jako emulgátor v potravinářském a kosmetickém průmyslu [56, 65].

2.7.2.5 *Biosurfaktanty z částic*

Tyto formy biosurfaktantů jsou tvořeny z částic extracelulárních membránových vezikul, které vytváří mikroemulze. Ty hrají důležitou roli v absorpci alkanů mikrobiálními buňkami. Vezikuly z kmene *Acinetobacter spp.* jsou složeny z proteinu, fosfolipidů a lipopolysacharidů [56].

2.7.2.6 *Saponiny*

Saponiny jsou velká skupina strukturně příbuzných sloučenin steroidního nebo triterpenoidního aglykonu (sapogenin) spojených s jednou nebo více oligosacharidovými skupinami glykosidovou vazbou. Uhlovodíková skupina sestává z pentóz, hexóz nebo uronových kyselin. Přítomnost polárních (sacharidových) i nepolárních (steroidních či triterpenových) skupin poskytuje saponinům silné povrchově aktivní vlastnosti [66].

Jejich fyzyiochemické a biologické vlastnosti mají strukturální rozmanitost, která vede k řadě využití. Mnoho saponinů vykazuje odlišné pěnicí vlastnosti. Přidávají se do šamponů, tekutých pracích prostředků, zubních past a nápojů. Kromě toho byly prokázány u saponinů produkovaných z rostlin některé farmakologické účinky (protizánětlivost, antimikrobiální, antidermatofytické a cytotoxické účinky) [66].

2.7.3 Aplikace biosurfaktantů

Biosurfaktanty jsou využívány v mnoha odvětvích, jako jsou organické chemikálie, ropa, petrochemie, těžba, agrochemikálie, hnojiva, potraviny, nápoje, kosmetika, léčiva a mnoho dalších. Mohou být použity jako emulgátory, stejně jako deemulgátory, smáčedla, pěnicí činidla, funkční potravinové složky a detergenty. V potravinářském průmyslu jsou tyto látky využívány jako činidla snižující povrchové a mezifázové napětí. Usnadňují tím tvorbu a stabilizaci emulzí. V pekařství se využívají rhamnolipidy pro zlepšení stability těsta, objemu a struktury pečárenských výrobků. Jelikož jsou biosurfaktanty považovány za málo toxické či netoxické jsou více využívány v kosmetickém a lékařském průmyslu jako emulgátory. Jsou považovány za tzv. GRAS látky – všeobecně považované za bezpečné. Patří zde například rhamnolipidy či soforolipidy. Pro jejich biodegradabilitu jsou úzce spojeny s bioremediací a biosorpcí [56].

2.8 Statistické metody pro analýzu dat

Naměřené výsledky byly zpracovány pomocí vícerozměrné statistické metody.

2.8.1 Analýza rozptylu

Tato základní statistická metodika zvaná též zkráceně ANOVA je metodou pro testování hypotéz o středních hodnotách více než dvou skupin. Její úkol je posouzení účinků jednotlivých faktorů na závisle proměnnou kvantitativního typu. Pokud faktory nemají žádný vliv na měřenou veličinu, neprojeví se to ani na statistických charakteristikách této veličiny. Pokud je faktor významný, projeví se to na příslušných charakteristikách – rozptylu a střední hodnotě. Aby byla analýza rozptylu platná, musí být splněny předpoklady: náhodnost, nezávislost a normalita a shoda rozptylů [67].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

V experimentální části je shrnuté, jaká piva byla použita pro stanovení pěnivosti, jaké laboratorní pomůcky byly využity a jaká měření byla aplikována pro měření pěnivosti piva.

3.1 Vzorky piva

Pro experimentální stanovení bylo použito nealkoholické a výčepní pivo, světlý ležák a speciální pivo (viz Tab. 2).

Tab. 2: Seznam použitých piv

Název	Označení piva	Obsah alkoholu	Výrobce
Zlatopramen	nealkoholické	max. 0,5 %	Heineken Česká republika, a.s.
Bakalář	nealkoholické	max. 0,5 %	Tradiční pivovar v Rakovníku, a.s.
Bakalář	výčepní	4,0 %	Tradiční pivovar v Rakovníku, a.s.
Bakalář	ležák	4,9 %	Tradiční pivovar v Rakovníku, a.s.
Rakovar	speciální	5,8 %	Tradiční pivovar v Rakovníku, a.s.

Pro vzorová stanovení pěnivosti piva dle Rudina a měření povrchového napětí bylo použito nealkoholické pivo Zlatopramen, do kterého byl následně přidán ethanol k dosažení určitých procent alkoholu v pivu.



Obr. 12: Použitá piva pro experimentální stanovení

3.2 Použité biosurfaktanty

Pro stanovení pěnivosti piva s přídatkem povrchově aktivních biomolekul a měření povrchového napětí byly použity tyto biosurfaktanty:

- Saponin (VWR, Česká republika)
- Lactonic sophorolipids
- Acidic sophorolipids
- Rhamnolipids (AGAE Technologies, LLC, USA)

3.3 Seznam použitých laboratorních pomůcek, přístrojů a chemikálií

- běžné laboratorní sklo
- mikropipety
- aparatura dle Rudina
- centrifugační zkumavky (50 ml)
- pravítko
- lampa
- Ultrazvuková čistička PS03000A Powersonic (NOTUS – POWERSONIC, Slovensko)
- Sigma 701 tenziometr (Biolin Scientific, Švédsko)
- Fisherbrand™ Digital Timer/Clock (FischerScientific, s.r.o., USA)
- Analytické váhy Kern AES 200-4C
- pH metr
- Vortex (TTS 2 Yellow Line, USA)
- Centrifuga (ROTOFIX32 A, Hettich, Německo)
- Sušárna DRY-Line® (VWR International, Česká republika)
- HPLC Agilent 1260 Infinity
- Ethanol 96 % (Penta, Česká republika)
- ICS-14 (Labor Veritas, Švýcarsko)
- Kyselina fosforečná (Sigma Aldrich, Německo)
- Na₂EDTA (Sigma Aldrich, Francie)
- Methanol (Sigma Aldrich, Německo)
- Acetonitril (Sigma Aldrich, Německo)
- Isooktan (Penta, Česká republika)

3.4 Příprava vzorků

Před měřením byla piva nejprve odplyněna pomocí ultrazvuku. Nejprve bylo odplyněno nealkoholické pivo Zlatopramen, které bylo použito jako vzorové pivo pro měření, tj. byla vytvořena řada vzorků do odměrných baněk s přidavkem ethanolu (1–8 obj. %). Pak byla odplyněna ostatní piva (Bakalář, Rakovar).

Odplyněné vzorky piv byly použity pro měření povrchového napětí, rozpadu pěny dle Rudina a stanovení obsahu iso- α -hořkých kyselin.

3.5 Stanovení povrchového napětí

Povrchové napětí bylo měřeno na přístroji Sigma 701 a pomocí programu SGSERVER byla zpracována data.



Obr. 13: Měření povrchového napětí na přístroji Sigma 701 (Biolin scientific, Švédsko) a detail měření
Nejprve byl přístroj zkalibrován, a poté bylo provedeno měření. Do nádobky bylo nalito 30 ml odplyněného vzorku. V programu bylo zvoleno nové měření a byly nastaveny podmínky pro měření dle Tab. 3.

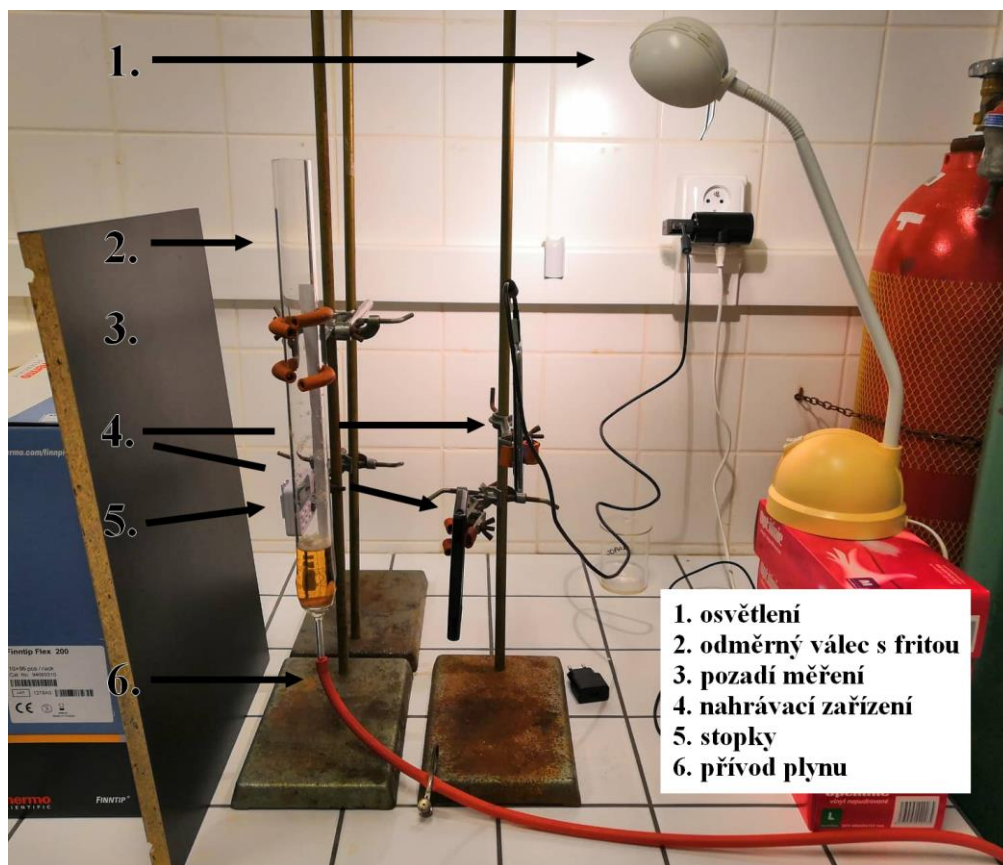
Tab. 3: Nastavené možnosti měření povrchového napětí

Probe (sonda)	Std - Ring (kroužek)	Heavy phase (těžká fáze)	water/beer (voda/pivo)
Vessel (nádobka)	Small (malá)	Light phase (lehká fáze)	air (vzduch)

Bylo nastaveno měření 10 bodů trvající deset minut. Sonda (kroužek) byla před každým novým měřením ožihána nad plamenem, vložena do přístroje a nastavena do polohy nad nádobkou. Poté bylo na programu zvoleno tlačítko Start a bylo spuštěno měření. Po deseti minutách byl konec měření a naměřená data byla zpracována v programu Microsoft Excel.

3.6 Stanovení rozpadu pěny piva podle Rudina

Pomocí Rudinovy metody byla sledována doba rozpadu pěny (fáze odvodňování pěny). Toto stanovení bylo nahráváno pomocí mobilní aplikace Time Spirit a byla sestavena aparatura vhodná pro toto natáčení (Obr. 15).



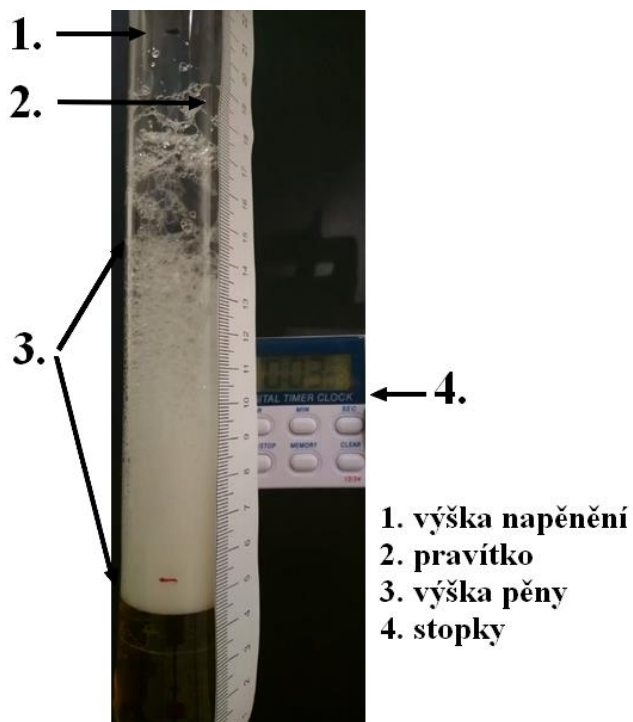
Obr. 14: Aparatura pro stanovení pěnivosti piva podle Rudina

Odplyněné pivo (50 ml) bylo nalito do válce s fritou. Pomocí přívodu plynu byl skrz fritu přiveden oxid uhličitý do válce a pivo bylo napěněno do výšky 15 cm. Doba pění vzorků byla $18,7 \pm 3,5$ s. Po naplnění vzorků byl zaznamenáván čas a záznam pomocí mobilní aplikace Time Spirit po dobu 30 minut. Aplikace byla nastavena tak, že každou sekundu byl pořizován pomocí fotoaparátu snímek. Ze snímků bylo sestaveno video, ze kterého byl sledován rozpad a chování pěny během rozpadu. Dále byla zaznamenávána výška pěny v určitých časech a pozorováno ulpívání na skle.



Obr. 15: Detailnější pohled na nahrávání měření stability podle Rudina

Aplikace Time Spirit byla nastavena na natáčení po dobu 30 minut, kdy každou sekundu byl pořizován pomocí fotoaparátu snímek. Ze snímků bylo sestaveno video, ze kterého byl sledován rozpad a chování pěny během rozpadu. Dále byla zaznamenávána výška pěny v určitých časech a pozorováno ulpívání na skle.



Obr. 16: Sledování výšky pěny piva a ulpívání na skle u nealkoholického piva v 3. minutě

Nejprve byl rozpad pěny měřen na nealkoholickém pivu Zlatopramen. Poté byl do piva přidáván ethanol, aby bylo dosaženo přídatku 1–8 obj. % alkoholu. Dále byla měřena ostatní piva z Tab. 2. Poté byly vyhodnoceny výsledky a byl zvolen přídavek ethanolu, se kterým se pokračovalo v měření s povrchově aktivními biomolekulami. Následně byly do tohoto piva přidány biosurfaktanty o různých koncentracích zvolených z měření povrchového napětí a potom byl sledován rozpad pěny s povrchově aktivními látkami. Každé měření bylo provedeno dvakrát. Výsledky byly zpracovány a diskutovány v další kapitole.

Naměřená data byla zpracována v programu Microsoft Excel a fotografie z videí byly upraveny v programu Photofiltre.

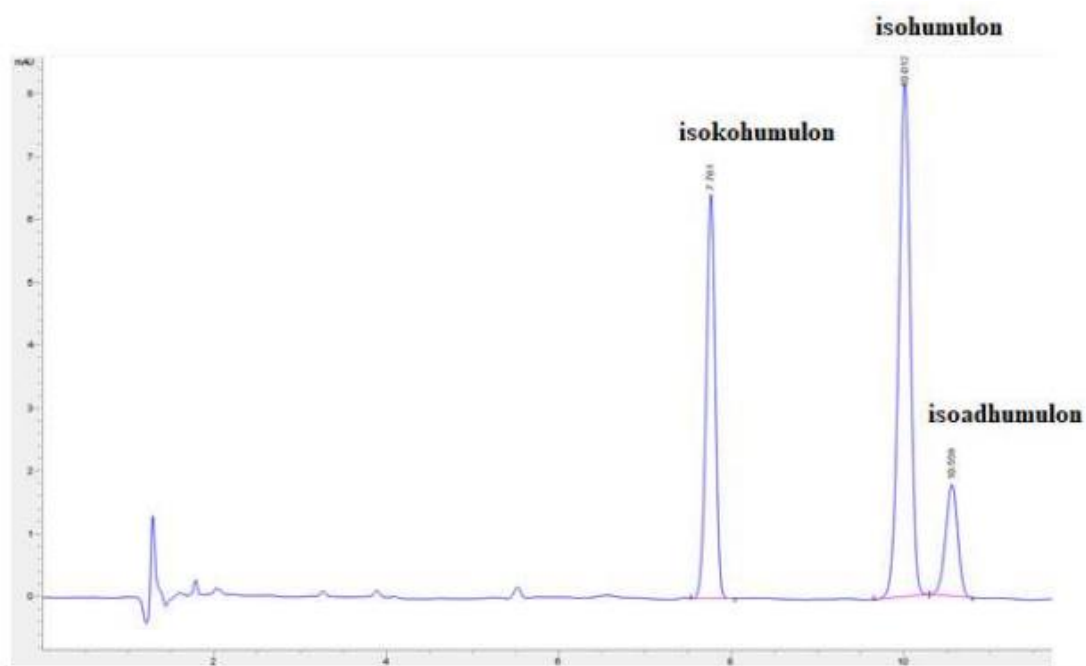
3.7 Stanovení obsahu iso- α -hořkých kyselin

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie byla použita pro stanovení obsahu iso- α -hořkých kyselin. Nastavení přístroje je uvedeno v tabulce 4. Chromatogram standardu je na obrázku 18. Retenční čas isokohumulonu byl 7,761 min, isohumulonu 10,012 min a isoadhumulon 10,559 min. U vzorků nealkoholických piv (Zlatopramen, Bakalář) bylo nejprve nutné provést extrakci iso- α -hořkých kyselin. Do 50 ml centrifugační zkumavky bylo pipetováno 10 ml vzorku, 0,5 ml kyseliny fosforečné a 10 ml isooktanu. Zkumavka byla 1 minutu vortexována. Následně byl přidán 1 ml methanolu a směs byla 15 minut ultrazvukována. Poté byla směs umístěna do centrifugy a odstředěna po dobu 5 minut při 4 000 otáčkách. Po oddělení fází bylo z horní fáze odebráno 7,5 ml průzračného supernatantu. Supernatant byl vysušen v proudu dusíku a vyextrahované kyseliny byly redisolčovány ve 2 ml methanolu. Obsah byl převeden do vialek. Měření byla provedena dvakrát pro jeden vzorek.

Tab. 4: Parametry nastavení HPLC

Objem nástřiku	4 μ l	Průtok MF	1 ml/min
Teplota	40 °C	Složení MF	40 %: 0,1% H_3PO_4 , 0,2 mM Na_2EDTA
Detekce	270 nm		60 %: ACN
Detektor	DAD	Kolona	Poroshell 120 EC – C18 (4,6x50 mm; 2,7 μ m)

Vyhodnocení dat bylo provedeno v programu Agilent Chemstation. Kalibrační křivka byla složena ze čtyř kalibračních bodů o koncentraci 4,2; 8,4; 16,8 a 33,6 $mg \cdot l^{-1}$. Vyhodnocení proběhlo pomocí lineární regrese a přesnost měřených analytů byla posuzována podle korelačního koeficientu R^2 , který u všech analytů dosahoval hodnot $R^2 > 0,999$.



Obr. 17: Chromatogram standardu ICS-14 (stanovení při 270 nm)

3.8 Statistická analýza dat

K posouzení statisticky významných rozdílů mezi naměřenými daty byla použita Analýza rozptylu (ANOVA) pomocí MS Excel a XLSTAT.

4 DISKUZE A VÝSLEDKY

Experimentální činnost byla rozdělena do několika etap. V první fázi byly experimenty zaměřeny na studium vlivu obsahu alkoholu na stabilitu pěny v obohacovaném nealkoholickém pivu a reálném pivu. V druhé fázi bylo změřeno povrchové napětí ve vzorcích. V poslední fázi byly výzkumné aktivity orientovány na testování různých druhů biosurfaktantů z hlediska vlivu na stabilitu pěny. Byla provedena stejná měření (stabilita pěny, povrchové napětí). Výsledky byly shrnuty a diskutovány níže.

4.1 Vliv ethanolu na stabilitu pěny na modelovém pivu

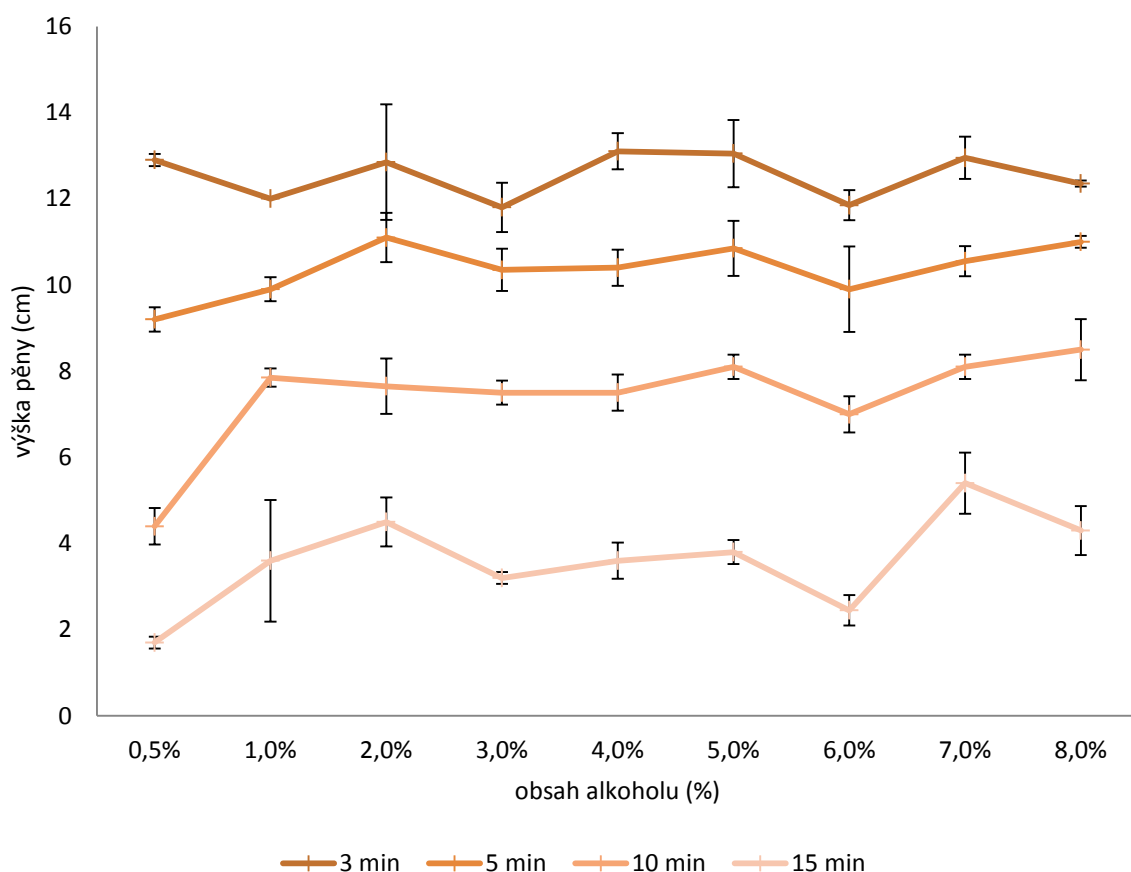
V rámci testování vlivu alkoholu na stabilitu pěny byly proměřeny nejprve vzorky nealkoholického piva obohaceného ethanolem v rozsahu 1–8 %. Metoda byla popsána v kapitole 3.6. Byla sledována výška pěny v určitých časech. Potom byla sestavena závislost průměrné výšky pěny na čase (Obr. 20), Potom byly podle závislosti sledovány statické rozdíly mezi vzorky. A byla sestavena závislost výšky na procentech alkoholu v časech 3, 5, 10 a 15 minut (Obr. 19).

Při pozorování hladiny pěny v trubici bylo patrné, že u všech testovaných vzorků docházelo k exponenciálnímu průběhu propadu pěny po dobu měření (30 minut). Z grafu byly dále určeny kritické časy, ve kterých byly pozorovány a porovnávány vzorky.

Ze závislosti bylo zjištěno, že do 3,5 minuty byl sledován lineární trend poklesu pěny u všech vzorků a výška pěny byla srovnatelná. Rychlost klesání pивní pěny byla u všech vzorků v rozsahu $2,08\text{--}2,49\text{ cm}\cdot\text{min}^{-1}$. Dle analýzy rozptylu bylo zjištěno, že po 4 minutách nebyl statický významný rozdíl studovanými vzorky ($P = 0,1693$). Od čtvrté minuty poté došlo ke zpomalení procesu pádu pěny. Rychlost pádu pěny u obohacených vzorků do 10. minuty byla v průměru $0,617\text{ cm}\cdot\text{min}^{-1}$. U nealkoholického piva bylo klesání pивní pěny $0,95\text{ cm}\cdot\text{min}^{-1}$.

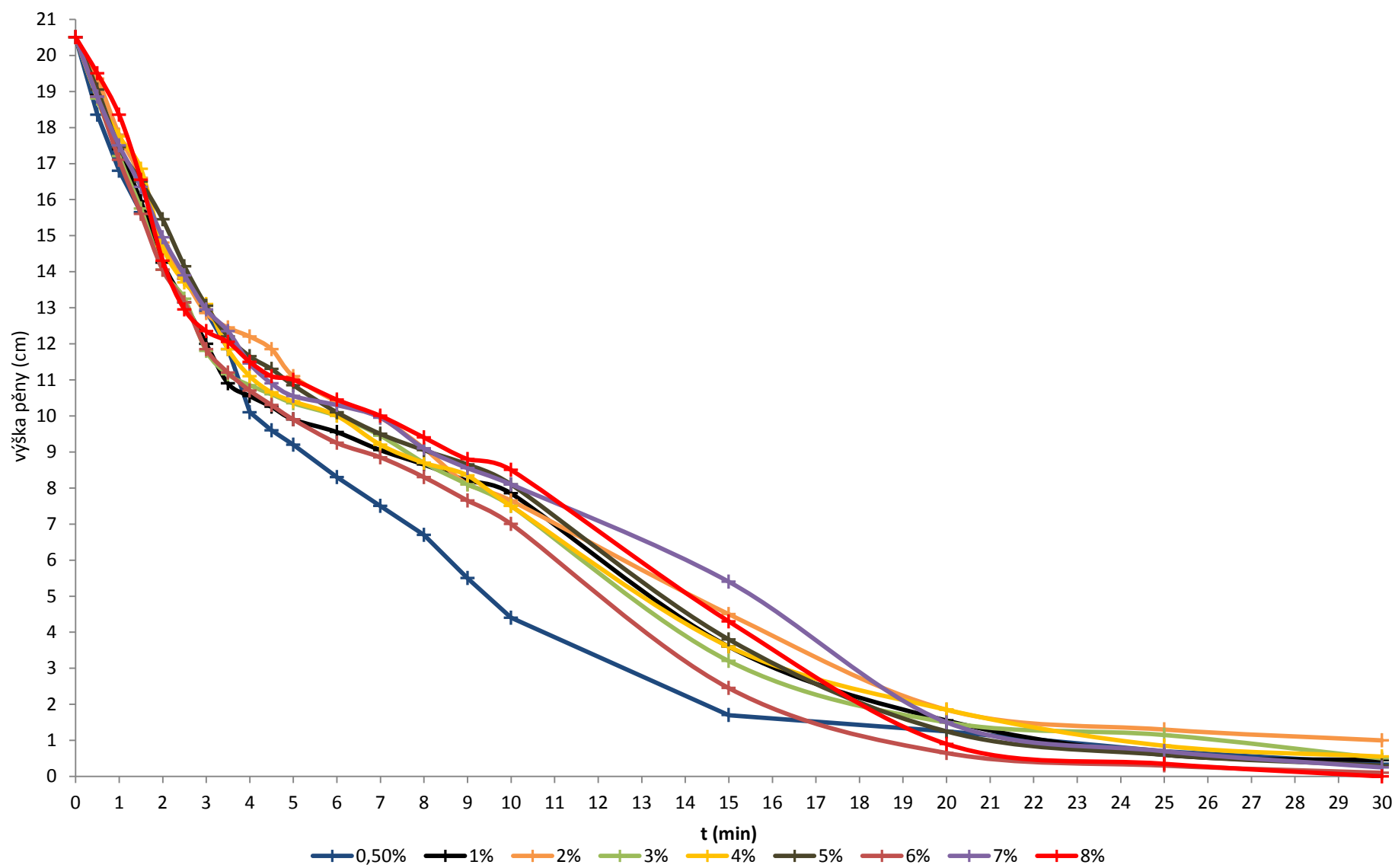
V 10. minutě bylo pozorováno, že výška pěny u nealkoholického piva byla oproti ostatním vzorkům poloviční ($4,4 \pm 0,42\text{ cm}$). Dle Tukeyeho testu bylo potvrzeno, že sloupec pěny u nealkoholického piva byl rozdílný oproti ostatním vzorkům. Mezi ostatními vzorky nebyl pozorován velký rozdíl a hladina pěny se pohybovala v rozmezí 7–8,5 cm. Z pozorování bylo patrné, že obohacené pivo vykazovalo v tomto čase lepší stabilitu pивní pěny než nealkoholické pivo.

Od 15. do 20 minuty bylo zjištěno, že rychlost úbytku pивní pěny u nealkoholického piva byla velmi malá a došlo téměř k úplné stabilizaci s výškou hladiny 2 cm. U vzorků pив obohacených ethanolem stále docházelo k lineárnímu poklesu sloupce pěny až do 20 minuty. Na základě analýzy rozptylu bylo zjištěno, že vzorky v 15. minutě byly rozděleny do čtyř skupin. Do první skupiny patřilo pivo s přídavkem 7 % ethanolu a mělo také nejvyšší sloupec pěny ($5,4 \pm 0,71\text{ cm}$). Do druhé skupiny patřila piva s přídavkem 2 % a 8 % ethanolu (4,3–4,5 cm). Třetí skupina obsahovala piva s přídavkem 5 %, 1 %, 4 % a 3 % ethanolu (3,2–3,8 cm). Do poslední kategorie patřilo nealkoholické pivo s nejnižší výškou pěny a pivo s přídavkem 6 % alkoholu (1,7–2,45 cm).



Obr. 18: Závislost výšky pěny na obsahu alkoholu v modelovém pivě v určitých časech

Od 20. do 30. minuty bylo pozorováno, že rozdíly výšek pěn u všech vzorků nebyly velké. Výška vrcholů se pohybovala od 0,65–1,85 cm. Rychlost klesání pивní pěny u všech vzorků po 20. minutě bylo v rozsahu od 0,055–0,130 cm/min. A od 25. minuty nebyly pozorovány rozdíly mezi vzorky (v rámci statické analýzy, $P = 0,0181$) a výška pěny byla ustálena. A v poslední minutě měření (30. minuta) byl sloupec pěny menší než 1 cm a byly spíše pozorovány rozdíly v ulpívání na skle. Na základě statické analýzy bylo zjištěno, že pivo s přídavkem 2 % alkoholu mělo ke konci měření nejvyšší výšku pěny (1 cm), a ta byla také k závěru stabilní. Tento trend trval od 15. minuty. Dále bylo zjištěno z této analýzy, že pivo s přídavkem 6 % a 8 % ethanolu mělo ke konci stanovení nejnižší sloupec pěny. Lze pozorovat, že s vyšším množstvím ethanolu ke konci měření byla méně stabilní pěna piva. Byla snížena adsorpce a pevnost adsorbované vrstvy, a to způsobilo, že pěny rychle odtékaly a byly méně stabilní.



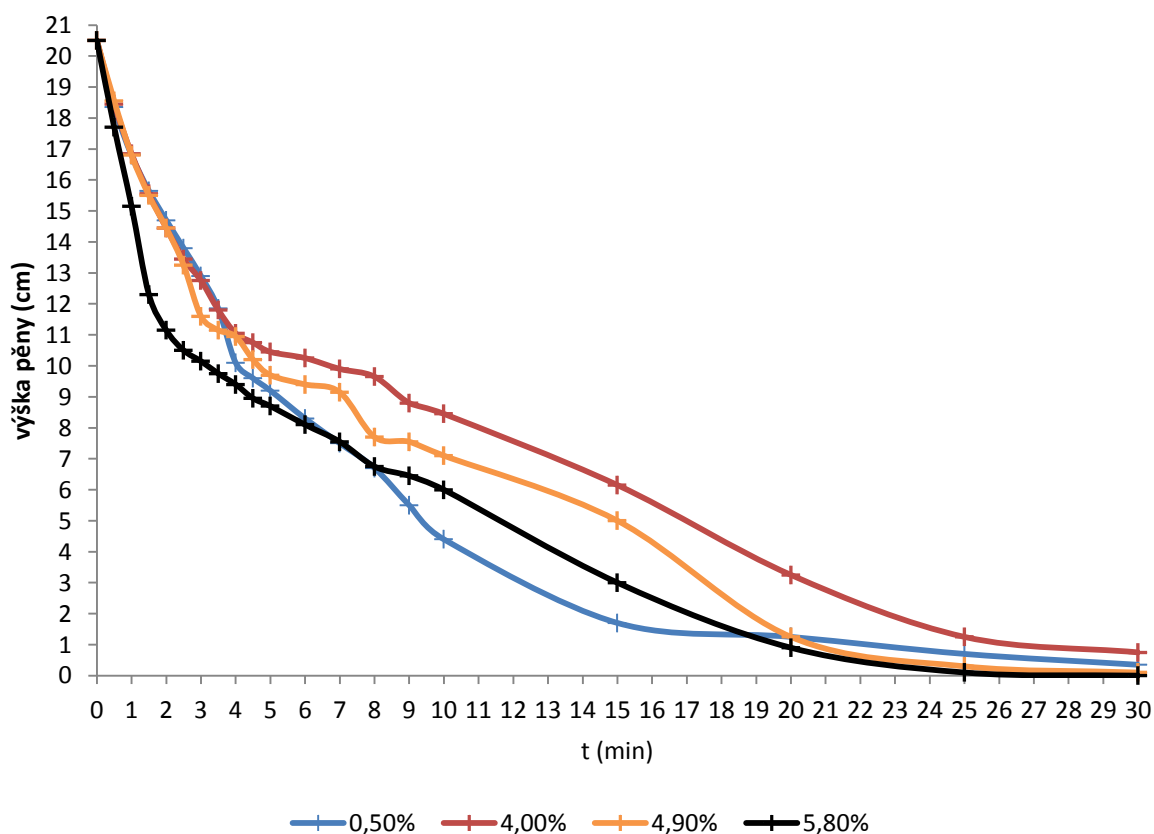
Obr. 19: Závislost výšky pěny v čase na modelovém pivě

Obecným zhodnocením tohoto experimentu bylo zjištěno, že přidavkem ethanolu dochází ke změně charakteristiky pивní pěny, ale není jednoduché najít přímou korelaci mezi zvyšujícím se obsahem ethanolu a její stabilitou. Podobným výzkumem se zabýval i Karl Siebert, který také potvrdil, že ethanol ovlivňuje vlastnosti pивní pěny. Pozoroval, že stabilita klesala od 0,5 % alkoholu do přídavku 3 % ethanolu do nealkoholického piva. Při dalším přidávání ethanolu byl naopak sledován pozitivní vliv do až do přídavku 8 % ethanolu. Od této koncentrace výše se ethanol opět choval jako negativní faktor [68]. Tento výsledek je přímo porovnatelný s předkládanou prací. V našem měření bylo u přídavku 3 % ethanolu také pozorováno, že tento vzorek patřil mezi vzorky s nejnižším sloupcem pěny, a to hned při několika časech. U vzorků s narůstajícím přídavkem ethanolu (4–8 %) se stabilita zlepšovala. Výjimku tvořil vzorek s přídavkem 6 % ethanolu, u kterého byl sledován negativní vliv alkoholu na stabilitu pěny. V rozporu s výsledky této práce i práce Karla Sieberta je studie od Ewen R. Brierley, který také studoval vliv ethanolu na stabilitu pěny a popsal, že ethanol působí jako pozitivní faktor ovlivňující stabilitu pěny do přídavku 3 % ethanolu [69]. Dalším přídavkem ethanolu poté docházelo ke snížení stability. V každém případě je ethanol významným faktorem ovlivňující charakteristiku pивní pěny ať už v pozitivním nebo negativním pohledu. Toto ovlivnění je pravděpodobně úzce spojeno s problematikou vlivu ethanolu na velikost bublin, který způsobuje snížení tloušťky filmu bubliny a zrychlení odvodňování pěny.

Kromě vlivu ethanolu na velikost bublin jsou z hlediska stability pěny významné interakce mezi ethanolem a proteiny. Zejména se jedná o protein Z, hordeiny a intracelulární přenašeč lipidů – LTP. Ewen R. Brierley studoval, jak se chová napěněný systém obsahující různé peptidové frakce (rozdělené dle hydrofobicity) a sledoval změny při přídavku ethanolu. Bylo prokázáno, že ethanol má z hlediska stability pěny významnější vliv na hydrofilní frakci. Ethanol se v tomto systému choval jako konkurenční povrchově aktivní látka k proteinům s nízkou molekulovou hmotností. Přídavkem ethanolu dochází ke snížení adsorpčního potenciálu pivních proteinů a rozhraní se stává méně termodynamicky atraktivní (zejména v hydrofilní frakci). Proto kombinace snížené adsorpce a snížené pevnosti adsorbované vrstvy způsobovalo, že pěny rychle odtékaly a byly méně stabilní v přítomnosti ethanolu (zejména v přídavku 3 % ethanolu) [69].

4.2 Vliv ethanolu na stabilitu pěny reálných piv

Měření stability pěny piva bylo též provedeno u reálných komerčních vzorků piv (Bakalář, Rakovar). Postup byl proveden stejně jako u kapitoly 4.1, a byla sestavena závislost výšky pěny na čase (Obr. 21) a také byla sestavena grafická závislost výšky na obsahu alkoholu ve vybraných časech (Obr. 22). Následně byla vyhodnocena piva s nejrychlejším a nejpomalejším pádem sloupce pěny (porovnána s nealkoholickým pivem Zlatopramen), a potom byly určeny kritické časy. Srovnání testování ethanolom spikovaného nealkoholického piva s komerčními vzorky je prezentováno v kapitole 4.3.

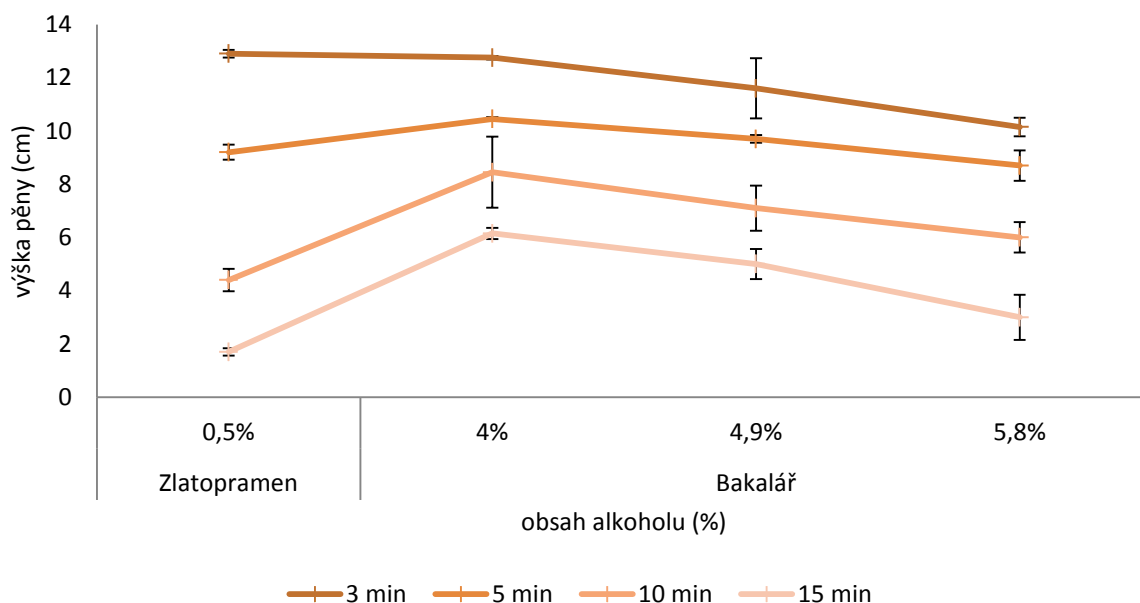


Obr. 20: Závislost výšky pěny piva na čase u reálných piv

U reálných vzorků bylo pozorováno, že průběh poklesu výšky pěny byl opět přibližně exponenciální. Bylo zjištěno, že od začátku experimentu nejrychleji klesala výška pěny u piva s 5,8 % alkoholu. V čase 2. minuty mělo pivo sloupec pěny výšku 11 cm. Ostatní piva dosáhly této výšky až o 1–2 minuty později. Potom byla kinetika pádu pěny pomalejší než na začátku měření. Na začátku měření byla rychlost poklesu pěny $4,68 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$. Od 2. do 20. minuty byla rychlost pádu pěny $0,57 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$. Ve 20. minutě byl pád pěny u piva s 5,8 % alkoholu ustálen a na konci měření nebyla pozorována žádná pěna.

Naproti tomu nejpomalejší pád sloupce pěny byl zaznamenán u piva s 4 % alkoholu a to ve všech časech. Ve srovnání s ostatními vzorky mělo pivo v osmé minutě nejvyšší výšku pěny o 2 centimetry a více. Od 5. minuty byl pozorován lineární pád pěny, kdy tento pokles byl ustálen až ve 25. minutě. Na konci měření byla výška sloupce pěny 0,75 cm.

Dle statické analýzy bylo zjištěno, že v páté minutě speciální pivo (5,8 %) mělo oproti ostatním vzorkům rozdílnou výšku. V 10. minutě byly výšky sloupce pěny podobné. Ke konci měření (30. minuta) měly vzorky na základě statické analýzy podobné hodnoty.

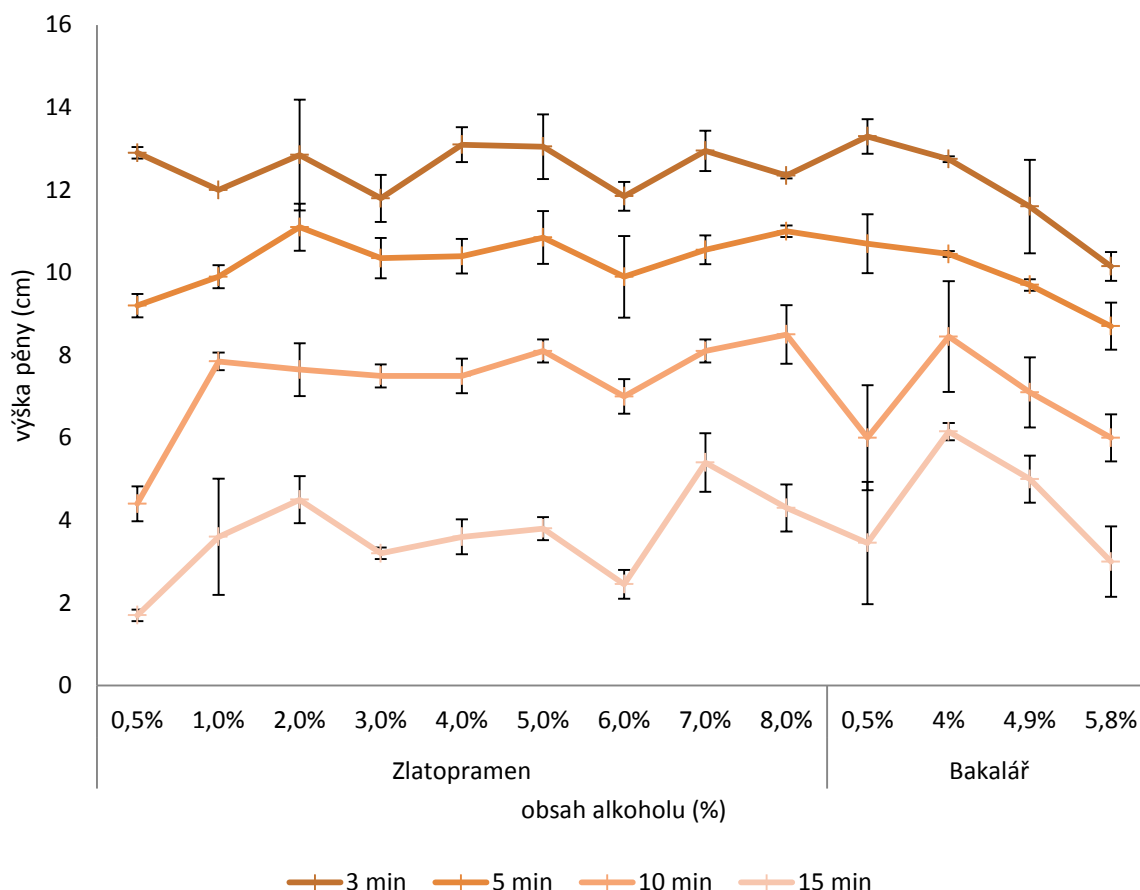


Obr. 21: Závislost výšky pěny na obsahu alkoholu v reálných pivech a srovnání s nealkoholickým pivem

V porovnání s nealkoholickým pivem Zlatopramen byla výška pěny u reálných piv ve třetí minutě nižší než u vzorového piva. Malý rozdíl byl pozorován jen u piva s obsahem alkoholu 4 % (pouze o 0,15 cm nižší výška). V desáté minutě byl sledován pokles výšky pěny u nealkoholického piva na 4,4 cm, ostatní vzorky měly velikost sloupce pěny v rozmezí 6–8,45 cm. Lze tedy sledovat pozitivní efekt ethanolu na stabilitu pěny piva. Stejný efekt byl pozorován v patnácté minutě.

4.3 Porovnání stability pěny u modelových a reálných piv

Modelový systém založený na obohacování nealkoholického piva ethanolom přináší výhodu větší variability nastavení parametrů experimentu. Pro další postup v experimentální části ale bylo třeba zhodnotit, zda se tento modelový systém chová podobně jako systém reálný (komerční pivo). V této kapitole byly porovnány velikosti sloupců pěny u modelových a reálných vzorků v určených časech (3., 5., 10., 15. minuta).



Obr. 22: Porovnání velikostí sloupců pěny v určitých časech mezi modelovým a reálným pivem

Vzorová a reálná piva byla porovnána mezi sebou a byl sledován významný efekt ethanolu na stabilitu pěny piv (Obr. 23).

U pozorování pádu pěny u piva s přídavkem 4 % ethanolu a Bakaláře se stejným obsahem alkoholu bylo sledováno, že ze začátku měření byl pád pěn podobný a rozdíly výšek byly minimální. Diference nastala v 10. minutě, kdy pivo značky Bakalář mělo o 0,95 cm vyšší pěnu než pivo s přídavkem ethanolu ($P = 0,586$). V 15. minutě byla výška u piva Bakalář 6,15 cm. Pivo s přídavkem 4 % ethanolu mělo velikost sloupce pěny 3,6 cm.

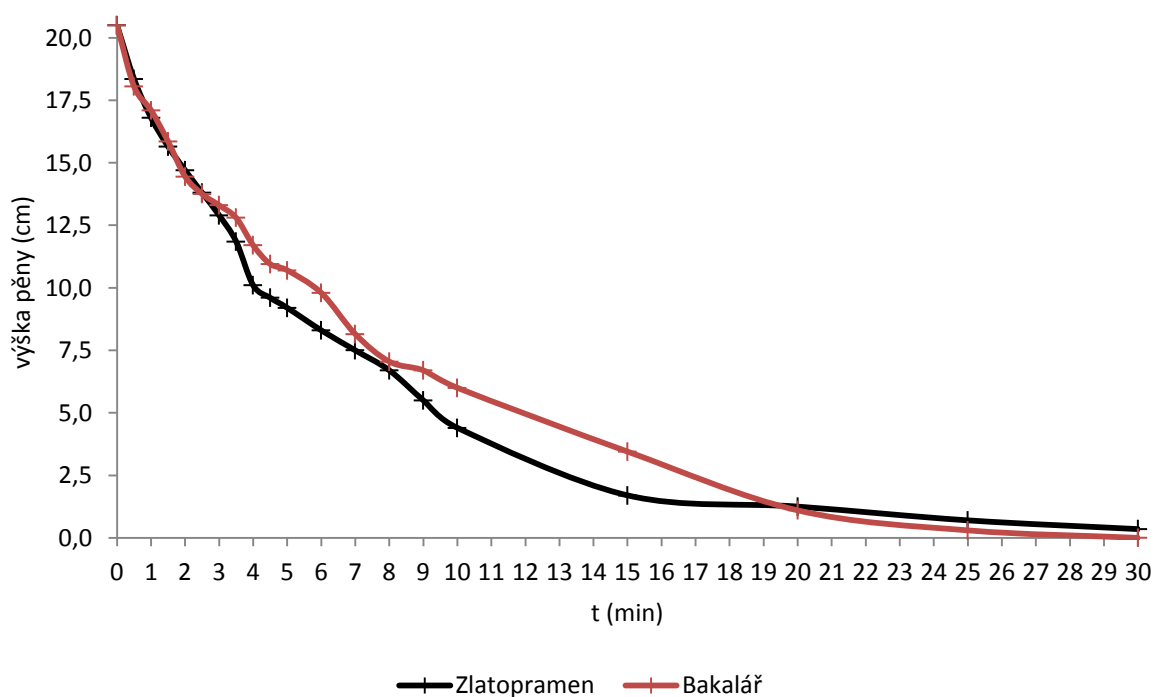
Při sledování pádu pěny mezi Bakalářem s obsahem alkoholu 4,9 % a pivem s přídavkem 5 % ethanolu bylo zjištěno, že do 10. minuty mělo druhé jmenované pivo vyšší velikost sloupce pěny (o 1,15 cm, $P = 0,582$). V 15. minutě bylo pozorováno, že u piva s přídavkem 5 % ethanolu klesla výška pěny na 3,8 cm. U piva Bakalář byla výška pěny 5 cm.

U piva s přídavkem 6 % ethanolu a pivem Bakalář s 5,8 % alkoholu byl pozorován ve třetí minutě rozdíl výšek pěn, kdy první zmíněné pivo mělo o 1,7 cm vyšší velikost sloupce pěny ($P = 0,139$). V páté minutě byl rozdíl o 1,2 cm, kdy stabilnější pěnu mělo pivo s přídavkem 6 % ethanolu ($P = 0,223$). V desáté minutě byl tento rozdíl jen o 1 cm ($P = 0,497$) a v 15. minutě byla pozorována již podobná velikost sloupce pěny (2,45–3 cm, $P = 0,582$).

V rámci výsledků bylo pro pokračování přídavku biosurfaktantů vybráno pivo s přídavkem 5 % alkoholu. Z hlediska konzumenta je pro něj důležitá stabilita pěny v časech 10–15 minut po natočení piva.

4.4 Vliv iso- α -hořkých kyselin na stabilitu pěny piva

Byla porovnána stabilita pěny u nealkoholických piv (Zlatopramen a Bakalář). Byl sledován exponenciální průběh poklesu výšky pěny v obou případech (Obr. 24). Do třetí minuty byl pozorován stejný pokles pěny (výška sloupců byla 12,9–13,3 cm). Od této minuty klesala pěna piva Zlatopramen rychleji než u druhého piva. V 10. minutě byla výška sloupce pěny u Zlatopramenu 4,4 cm, tj. o 1,6 cm více než u Bakaláře. Ve 20. minutě bylo pozorováno ustálení pádu pěny a výšky obou vzorků byly podobné (lišily se pouze o 0,15 cm).



Obr. 23: Závislost výšky pěny na čase u nealkoholických piv

Významný rozdíl mezi nealkoholickými pivy je pravděpodobně způsoben tím, že vzorek nealkoholického piva Bakalář byl za studena chmelený, tudíž byl možný rozdíl v obsahu hořkých kyselin v pivu. Z toho důvodu bylo provedeno měření obsahu iso- α -hořkých kyselin v obou nealkoholických pivech. Stanovení bylo provedeno podle kapitoly 3.7. Výsledky byly vyhodnoceny a porovnány mezi sebou (Tab. 5).

Tab. 5: Výsledné hodnoty z měření hořkých kyselin pomocí HPLC

Zlatopramen				Bakalář			
hořké kyseliny	měření	A	c (mg/l)	hořké kyseliny	měření	A	c (mg/l)
isokohumulon	1	43,6	2,07	isokohumulon	1	84,0	4,01
	2	45,3	2,16		2	85,9	4,10
	Ø	44,5	2,12		Ø	85,0	4,10
isohumulon	1	51,2	2,41	isohumulon	1	117,3	5,52
	2	53,4	2,51		2	121,4	5,71
	Ø	52,3	2,46		Ø	119,4	5,62
isoadhumulon	1	245,1	12,5	isoadhumulon	1	297,7	15,2
	2	256,8	13,1		2	308,3	15,8
	Ø	251,0	12,8		Ø	303,0	15,5

Pomocí HPLC (kapitola 3.7) byly stanoveny retenční časy hořkých kyselin — isokohumulonu (2,852 min), isohumulonu (3,742 min) a isoadhumulon (4,030 min). Dále byly stanoveny koncentrace těchto kyselin ve vzorku Zlatopramen a Bakalář. Bylo zjištěno, že koncentrace isokohumulonu ve Zlatopramenu byla $2,074 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ a v Bakaláři $4,05 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Koncentrace isohumulonu byla změřena na $2,46 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ve Zlatopramenu a v druhém nealkoholickém pivu byla koncentrace této kyseliny stanovena na $5,615 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Jako poslední byl stanoven isoadhumulon. Ve Zlatopramenu byla jeho koncentrace $12,821 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ a ve vzorku Bakalář $15,486 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Z výsledků bylo patrné, že nealkoholické pivo Bakalář obsahovalo větší koncentrace iso- α -hořkých kyselin.

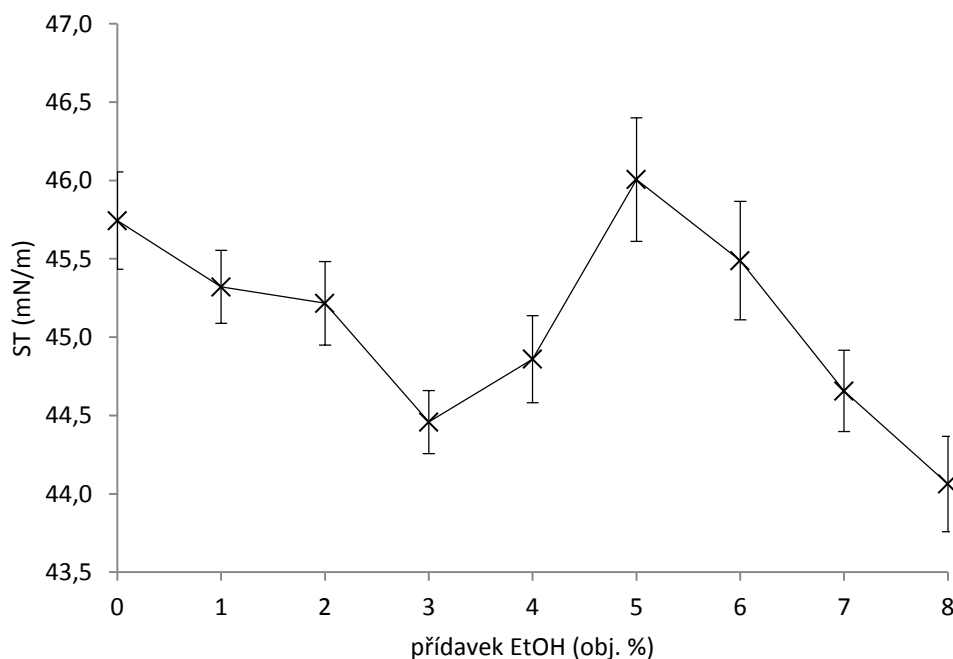
Jak již bylo zmíněno dříve, rozdíly ve stabilitě pěny u vzorků mohou být způsobeny obsahem hořkých chmelových látek, zejména iso- α -kyselinami, které zmenšují povrchové napětí, a jsou schopné se vázat na polypeptidy, které jsou obsaženy v pěně. Díky této schopnosti je zvýšena povrchová viskozita a stabilita pěny. Děje se tak na základě reverzibilních křížových vazeb, které mají iontově dipolární povahu, mezi karbonylovými skupinami hořkých kyselin a aminoskupinami polypeptidů. Ve struktuře pивní pěny je potřeba, aby minimálně dvě molekuly iso- α -kyseliny byly vázány přes týž dvojmocný kationt kovu, čím se zvyšuje afinita kyselin k vazbě na aminoskupiny polypeptidů. Bylo zjištěno, že v pivech s nízkým obsahem vysokomolekulárních bílkovin byl pozorován účinek na dobu rozpadu pěny, pokud byla změněna jednotka hořkosti. Na druhou stranu, jestli byl obsah bílkovin značný v pivu, byl sledován minimální efekt na čas rozpadu pěny [70, 71]. Pokud roste hydrofobita polypeptidů klesá pozitivní vliv iso- α -kyselin na hydrofobní polypeptidy a to může též ovlivnit stabilitu pěny negativně [71].

4.5 Studium charakteristiky pěny pomocí měření povrchového napětí

V případě metody dle Rudina je měření stability pěny proces časově náročný a je charakteristický relativně nízkou opakovatelností. Na základě článku a studie provedené Kitabatakem a Doiem bylo zjištěno, že se snižujícím se povrchovým napětím roste stabilita pěny [72]. Existoval tedy předpoklad, že by měření povrchového napětí mohlo nahradit zdoluhavé rozpěňovací pokusy (v případě silné korelace mezi povrchovým napětím a stabilitou pěny). Byl studován jak vliv ethanolu na povrchové napětí (kapitola 4.5.1), tak i korelace mezi povrchovým napětím a stabilitou pěny (kapitola 4.5.2) jak u modelového piva, tak u komerčního. Analýza byla provedena podle postupu zmíněného v kapitole 3.5.

4.5.1 Vliv ethanolu na povrchové napětí modelového piva

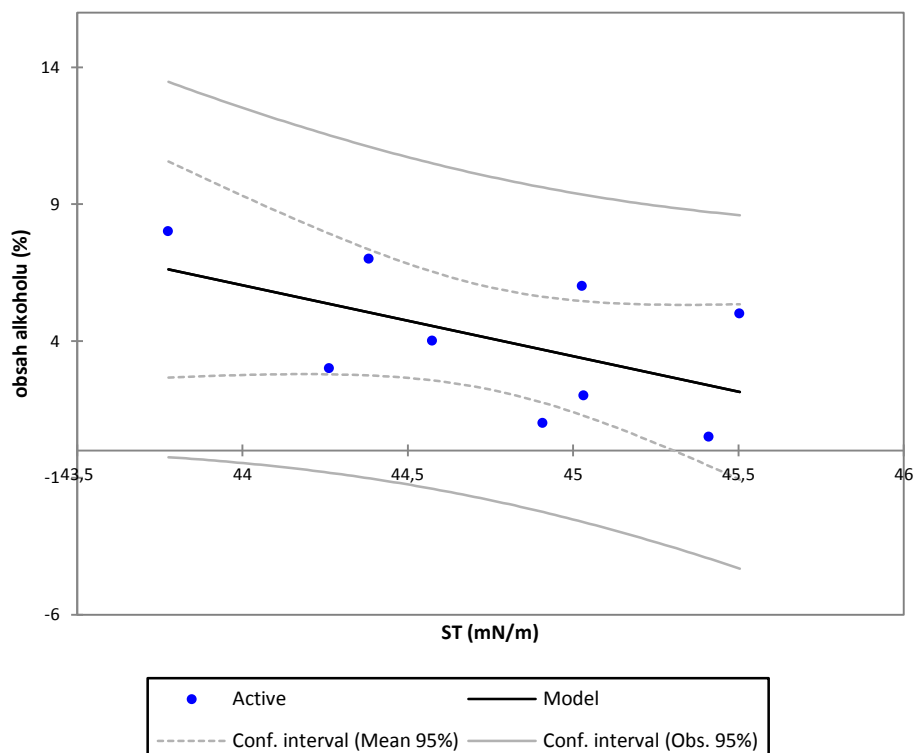
Nejprve bylo provedeno měření vlivu ethanolu na povrchové napětí vzorového piva. Byla sestrojena závislost povrchového napětí na obsahu alkoholu v modelovém pivě (Obr. 25) a výsledky byly diskutovány níže.



Obr. 24: Závislost povrchového napětí na přídavku ethanolu v modelovém pivu

Na základě měření bylo zjištěno, že nejnižší povrchové napětí bylo změřeno u piva s přídavkem 8 % alkoholu ($44,063 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$). Naopak nejvyšší povrchové napětí mělo pivo s přídavkem 5 % alkoholu ($46,006 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$), následované nealkoholickým pivem ($45,744 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$).

Dále byla provedena korelace mezi povrchovým napětím a koncentrací ethanolu. Bylo zjištěno, že v celém rozsahu obohacení ethanolem byla korelace stanovena na -0,55, tedy slabě negativní – čím vyšší obohacení ethanolem, tím nižší hodnota povrchového napětí, což potvrdilo původní hypotézu postavenou na studii publikovanou Kitabatakem a Doiem [72].

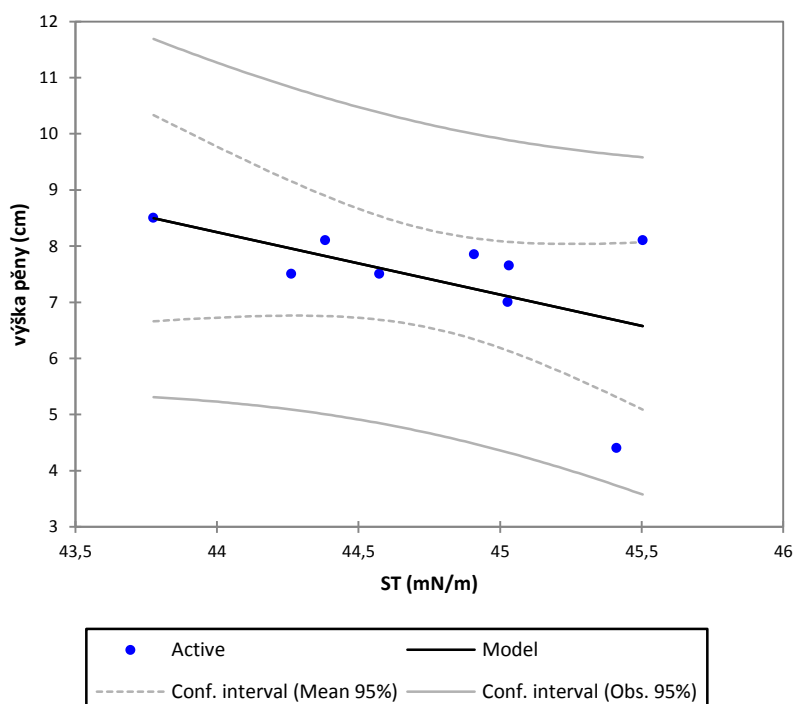


Obr. 25: Lineární regrese obohacení vzorku ethanolom na povrchové napětí v modelovém pivě

Možné příčiny tohoto jevu jsou popsány ve studii Bamforth a Kanauchiho [73]. Bylo zjištěno, že ethanol ovlivňuje charakteristiku pěny několika způsoby. V prvním případě se jedná o přímé snižování povrchového napětí a ovlivnění tvorby pěny a velikosti bublin (snížení tloušťky filmu bublin). V druhém případě se jedná o chování podobné lipidům. Dochází k interferenci s hydrofobními regiony bílkovin, které obklopují bubliny pěny, a tím se stávají bubliny nestabilní a dochází k urychlení rozpadu pěny.

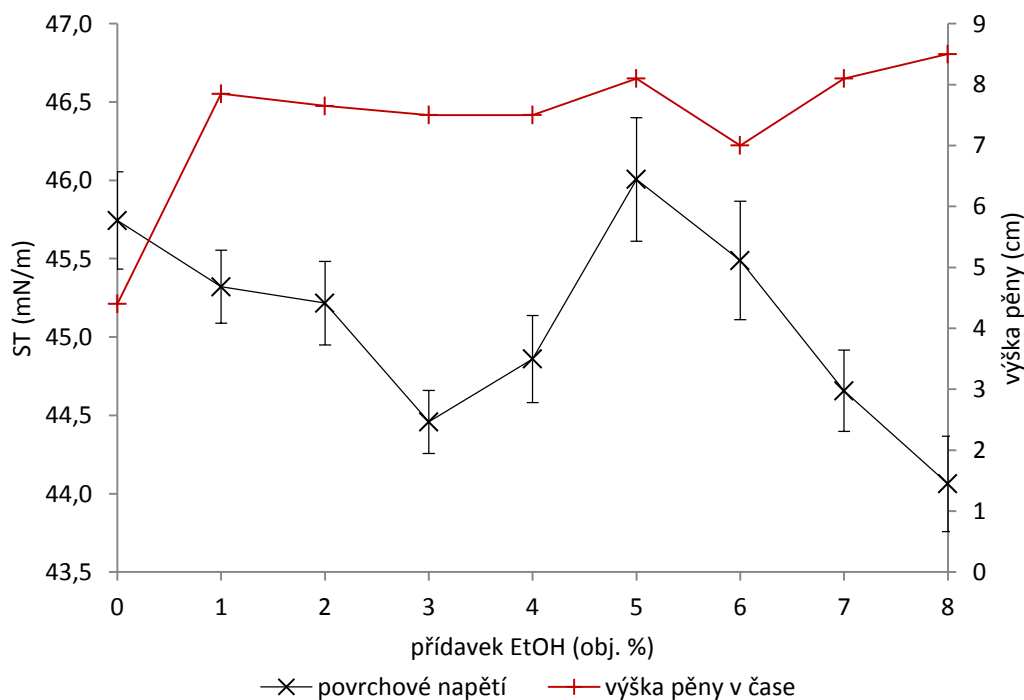
4.5.2 Korelace povrchového napětí s výškou pěny v 10. minutě ve vzorovém pivě

Pro potvrzení nebo vyvrácení základní hypotézy korelace povrchového napětí se stabilitou pивní pěny byla provedena lineární regrese povrchového napětí a výšky pěny na přidavku ethanolu v pivě v desáté minutě (Obr. 28) — z hlediska konzumenta je stabilita pěny v tomto čase po natočení piva důležitá. Na základě statické analýzy bylo zjištěno, že korelace mezi výškou pěny a povrchovým napětím v desáté minutě byla -0,52, tedy slabá korelace — čím nižší povrchové napětí, tím vyšší stabilita pěny (Obr. 27).



Obr. 26: Korelace povrchového napětí a výšky pěny na přidavku ethanolu v 10. minutě

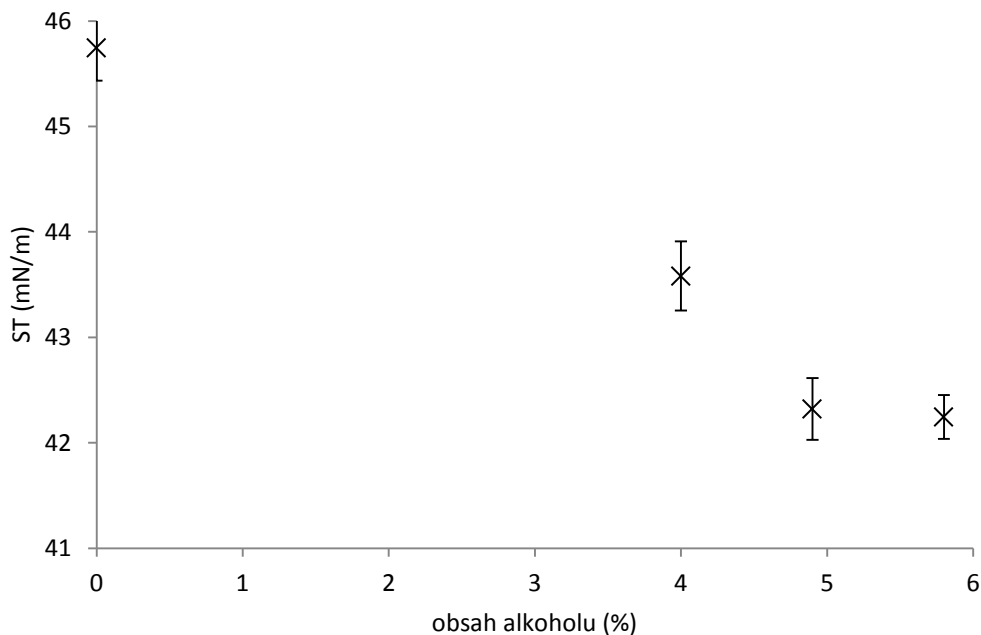
Výsledky měření jsou také prezentovány na obrázku 28. Bylo sledováno, že v desáté minutě mělo pivo s přidavkem 8 % ethanolu nejmenší povrchové napětí, a také největší výšku pěny ze vzorků. Výjimka, která významně snížila hodnotu korelačního koeficientu, je sledována u přidavku 5 % alkoholu, kdy toto může být způsobeno komplexními interakcemi ethanolu s polypeptidy v pivě, jak již bylo zmíněno dříve (kapitola 4.1).



Obr. 27: Porovnání povrchového napětí a výšky pěny v 10. minutě měření

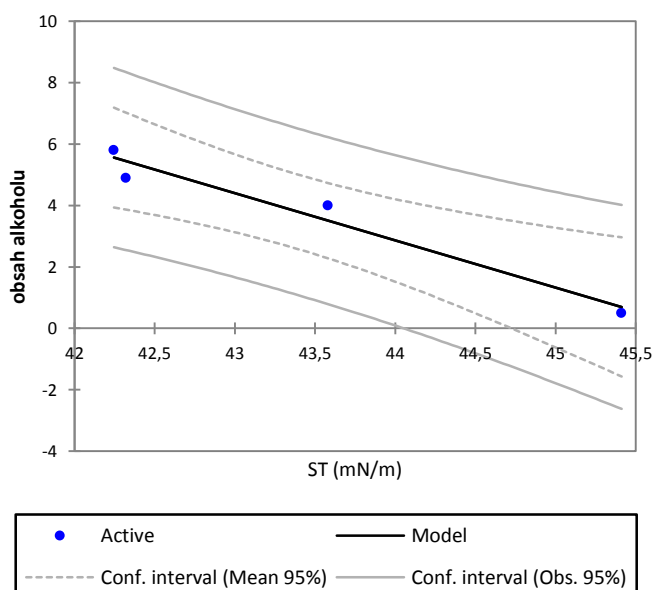
4.5.3 Vliv ethanolu na povrchové napětí u reálných piv

Povrchové napětí a vliv ethanolu na něj byl sledován také u reálných piv (viz Obr. 29).



Obr. 28: Závislost povrchového napětí na obsahu alkoholu u reálných piv

Z měření povrchových napětí u reálných piv byl pozorován klesající jev, kdy s přibývajícím množstvím ethanolu, klesalo povrchové napětí. Nejvyšší povrchové napětí tedy mělo nealkoholické pivo ($45,744 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$) a nejnižší ST mělo pivo s 5,8 % obsahu alkoholu ($42,245 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$). Následně byla provedena lineární regrese v rámci obsahu alkoholu od 4 do 5,8 % na ST.

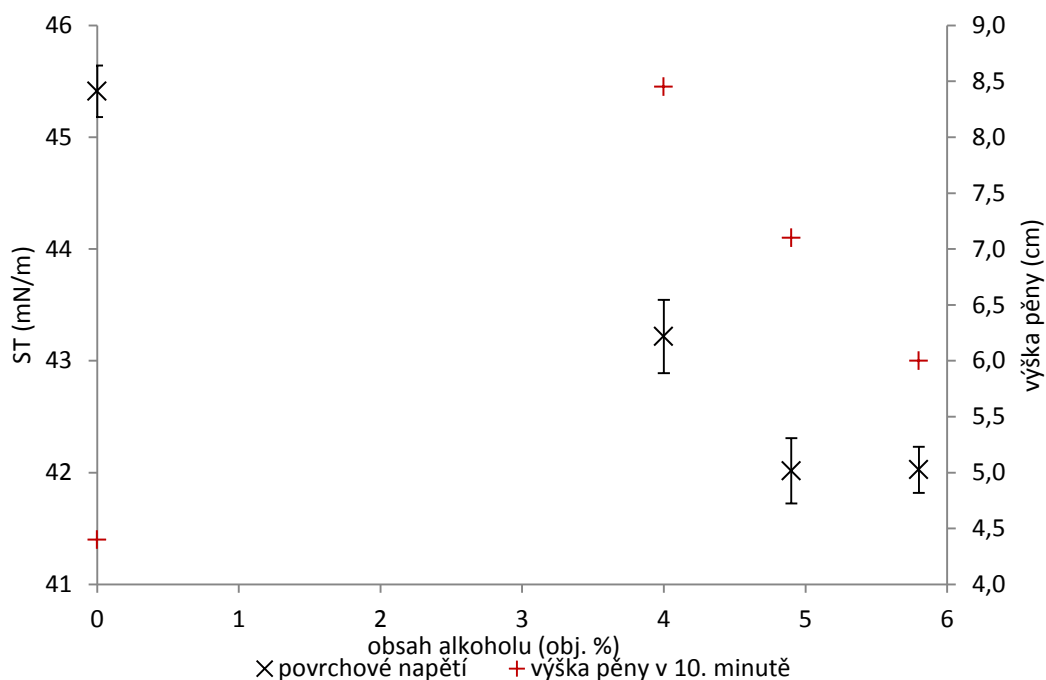


Obr. 29: Lineární regrese obsahu alkoholu na povrchové napětí v reálných pivech

Z výsledků lineární regrese (Obr. 30) v rámci obsahu alkoholu na povrchovém napětí bylo dosaženo téměř absolutní negativní korelace (-0,98) — čím vyšší je obsah alkoholu v pivu, tím menší bude povrchové napětí.

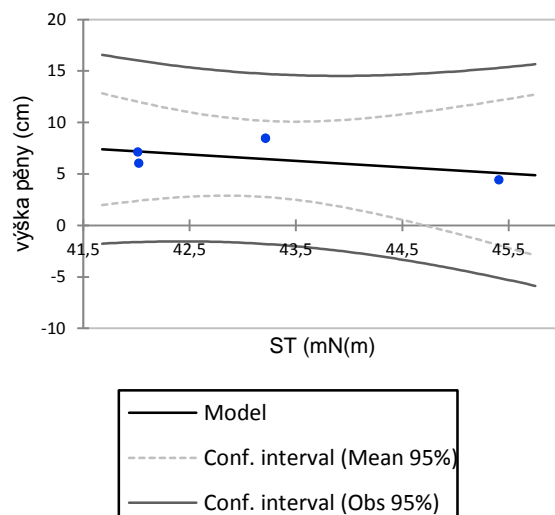
4.5.4 Korelace povrchového napětí s výškou pěny v 10. minutě u reálných piv

Podobně jako v kapitole 4.5.2, byla sestavena závislost povrchového napětí a výšky pěny na obsahu alkoholu v reálných pivech.



Obr. 30: Porovnání povrchového napětí a výšky pěny v čase 10. minut u reálných piv

Jak již bylo zmíněno v předchozí kapitole, s vyšším obsahem alkoholu v pivu klesalo povrchové napětí. Na základě studie provedené Kitabatakem a Doiem by měla být výška pěny větší u vzorků s nízkým povrchovým napětím než u těch s větším [72]. Tento jev lze sledovat u nealkoholického piva a piva s obsahem alkoholu 4 %. V rámci potvrzení studie by další vzorky s obsahem alkoholu 4,9 a 5,8 % měly mít větší výšku než pivo s obsahem alkohol 4 %. Avšak z obrázku 31 bylo pozorováno, že tomu tak nebylo a výšky pěn byly s větším obsahem alkoholu nižší.

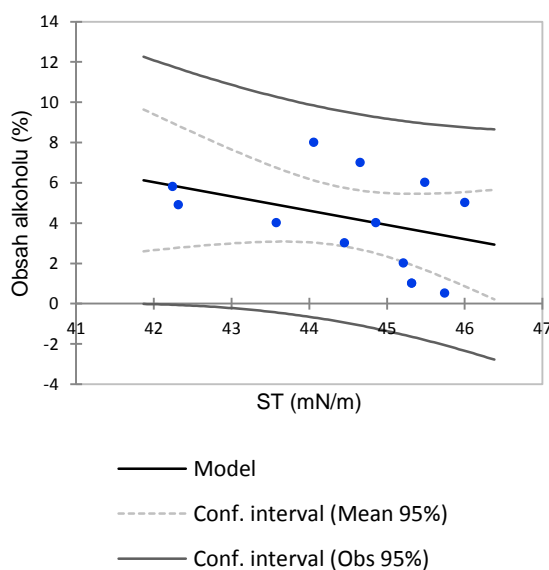


Obr. 31: Korelace povrchového napětí a výšky pěny v reálných pivech v 10. minutě

V rámci statické analýzy ale bylo zjištěno, že korelace mezi výškou pěny a povrchovým napětím v desáté minutě u reálných piv byla -0,58 (slabě negativní) a velmi podobná jako v případě testování na modelu (-0,52). Opět se tedy na této korelaci projevil fakt, že se snižujícím se povrchovým napětím roste stabilita pěny (v čase 10 min).

4.5.5 Porovnání výsledků mezi vzorovými a reálnými pivy

Bylo zjištěno, že povrchové napětí analyzovaných spodně kvašených piv se lišilo od povrchového napětí piv modelových. Bylo pozorováno, že s vyšším obsahem alkoholu byla sledována nižší hodnota povrchového napětí jak u vzorového piva, tak u reálných piv. V rámci měření lineární regrese mezi obsahem alkoholu a povrchovým napětím bylo zjištěno, že hodnota korelace byla -0,38 (slabě negativní) – mezi hodnotami obsahu alkoholu v pivu a povrchovým napětím nejsou tak významné korelace, jak v předchozích stanoveních a ubývá na statické významnosti hodnot.



Obr. 32: Lineární regrese obsahu alkoholu na povrchové napětí ve vzorových a reálných pivech

Závěrem této části experimentů lze říci, že existuje dobré propojení mezi obsahem alkoholu a povrchovým napětím, což bylo potvrzeno jak na modelových experimentech, tak i na reálných vzorcích. Korelace mezi ST a stabilitou pěny již tak vysokou korelaci nevykazuje. Není tedy možné provést úplnou náhradu charakterizace stability pивní pěny měřením na tenziometru bez rozpěnění. Komplexní podstata fyzikálních a chemických procesů v pěně vyžaduje analýzu na rozpěněných vzorcích.

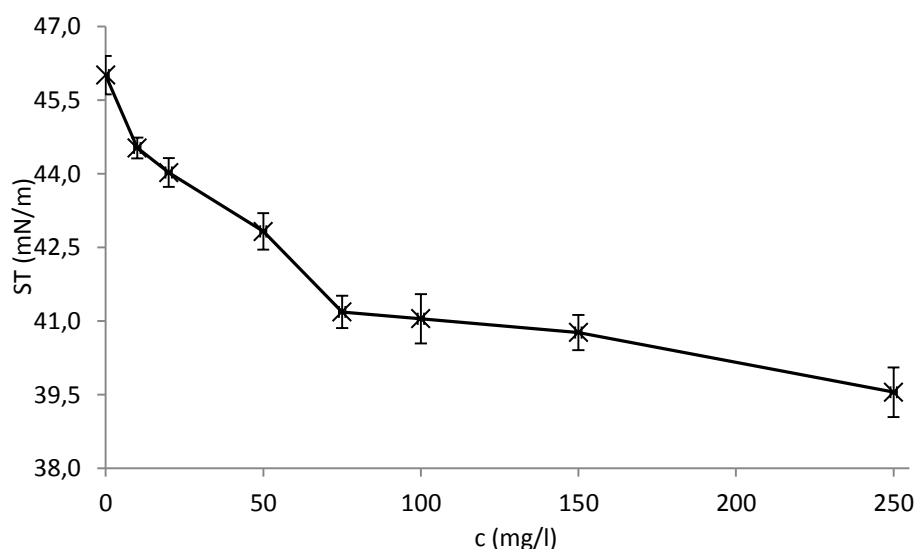
4.6 Vliv aplikace biosurfaktantů na povrchovém napětí

V rámci testování stability pěny piva byly vybrány 4 biosurfaktanty, povrchově aktivní biomolekuly, u kterých byl sledován vliv na povrchové napětí a stálost pěny piva. Biosurfaktanty byly přidávány do nealkoholického piva s přídavkem 5 % ethanolu. Tento vzorek byl vybrán na základě studie pití pив v České republice, kdy podle výzkumu Češi mají v oblíbenosti pití tzv. ležáků, které obsahují 4–5 % alkoholu [74] a také pro sledování zlepšení stability pěny. Pro analýzu byly vybrány saponiny, soforolipidy (kyselá a laktonová forma) a rhamnolipidy.

Na měření závislosti povrchového napětí byly vybrány různé koncentrace biosurfaktantů, poté byla sestavena závislost a byly vybrány 3–4 koncentrace povrchově aktivních biomolekul, se kterými byla později měřena stabilita pěny piva. Koncentrace byly zvoleny na základě trendu křivky.

4.6.1 Stanovení povrchového napětí piva s přídavkem saponinů

Nejprve bylo změřeno povrchové napětí piva s přídavkem saponinů o osmi různých koncentracích. Následně byla sestavena závislost a byly vybrány hodnoty, se kterými se potom měřilo dále.



Obr. 33: Závislost povrchového napětí na koncentraci saponinů

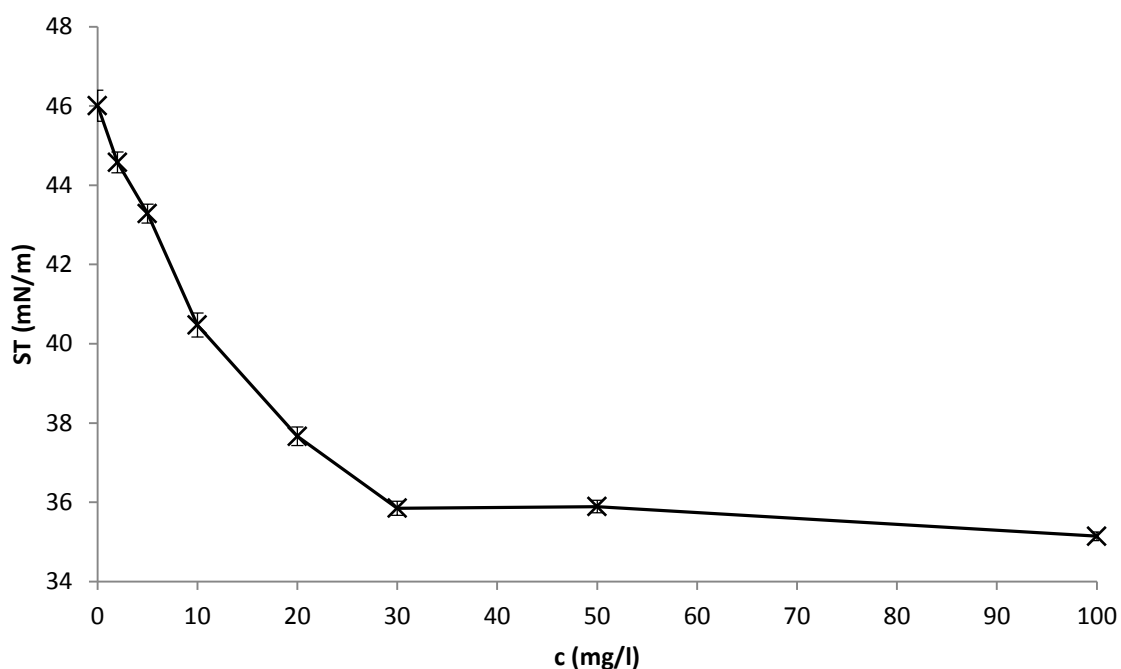
Z grafu bylo zjištěno, že povrchové napětí klesalo exponenciálně s narůstající koncentrací a bylo ustáleno v koncentraci $75 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Potom s narůstající koncentrací klesalo pomaleji, a proto pro měření stability pěny piva byly vybrány tři koncentrace (20, 50 a $75 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$).

Povrchová aktivita saponinu je obecně spojena s jeho membránovou permeabilitou a hemolytickou aktivitou, ale i s cytotoxickým potenciálem. Tyto hodnoty se však neprojevují ve stejné hodnotě pro každý saponin. Obecná korelace mezi hemolytickou aktivitou a cytotoxickým potenciálem nebyla prokázána u steroidních saponinů, což naznačuje, že tyto dvě charakteristiky jsou prováděny různými mechanismy a molekulární struktura hraje rozhodující úlohu [75]. Sledováním povrchového napětí na koncentraci saponinů se zabývali Chen a Yang. Studií bylo zjištěno, že s vyšší koncentrací klesá povrchové napětí [66].

4.6.2 Stanovení povrchového napětí piva s přidavkem soforolipidů

Dále bylo změřeno povrchové napětí piva s přidavkem soforolipidů jak u laktonové, tak i kyselé formy. Pro stanovení bylo zvoleno osm koncentrací a následně byl sestrojen graf, a byly vybrány koncentrace pro další měření.

Laktonová forma soforolipidů

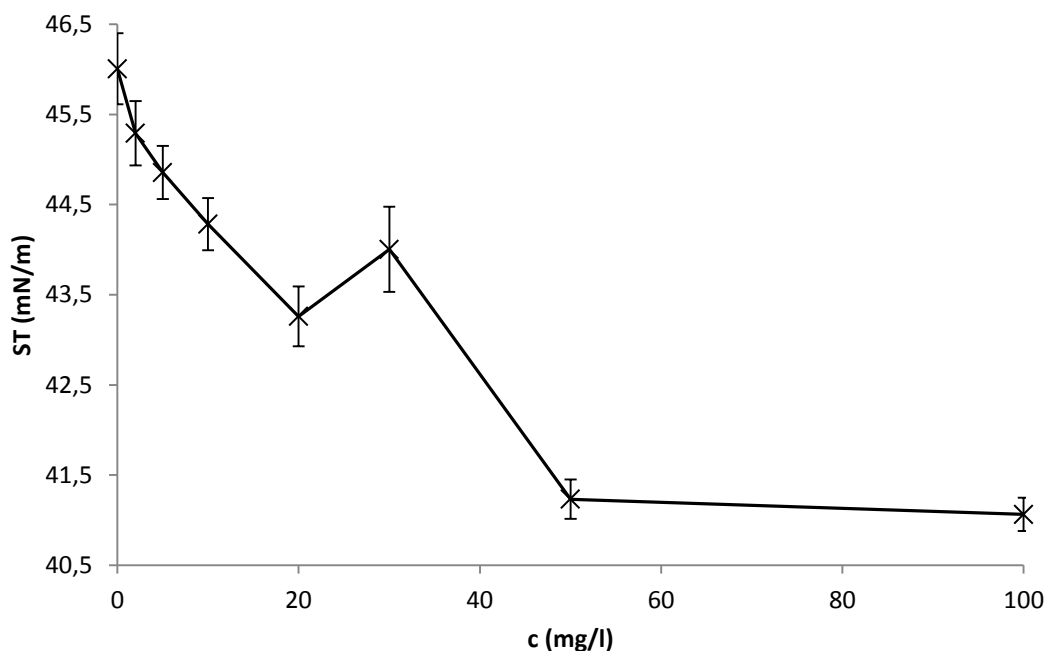


Obr. 34: Závislost povrchového napětí na koncentraci laktonové formy soforolipidů

Z grafu bylo zjištěno, že povrchové napětí klesalo exponenciálně s narůstající koncentrací a bylo ustáleno v koncentraci $30 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Pro měření stability pěny piva byly vybrány tři koncentrace (10, 20 a $30 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$).

Kyselá forma soforolipidů

Dále bylo měřeno povrchové napětí piva s přidavkem lineární formy soforolipidů. Také jak u předchozích měření, bylo vybráno osm koncentrací, ze kterých byly vybrány ty pro další měření.



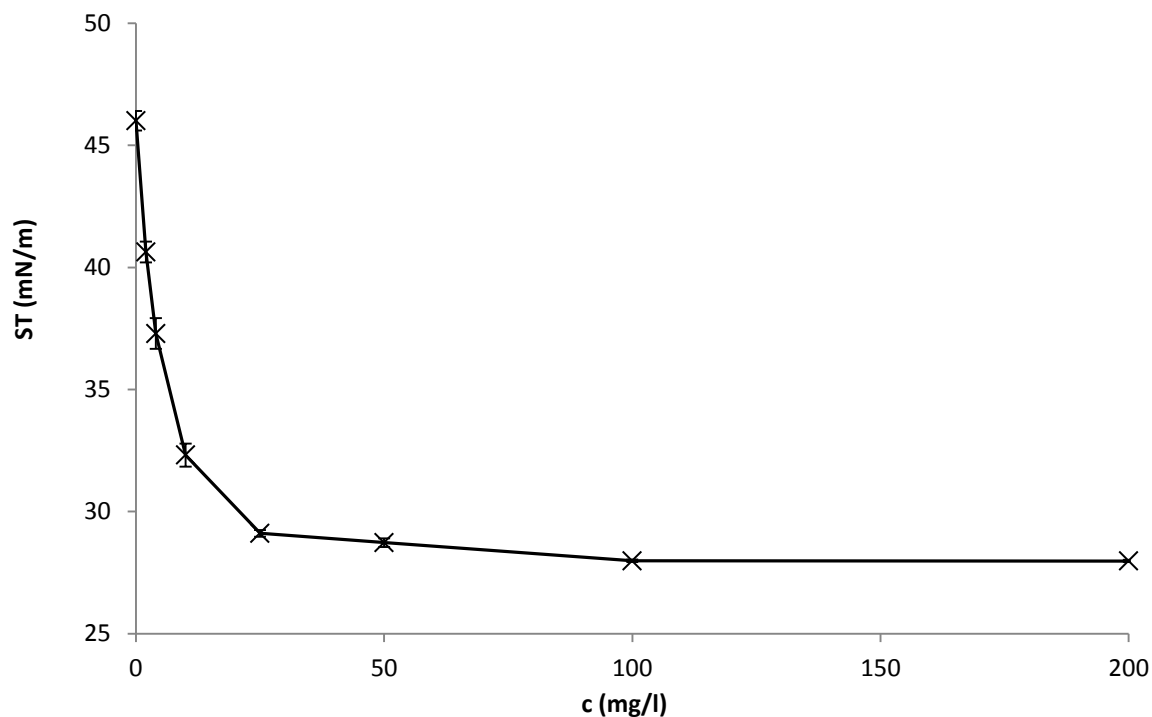
Obr. 35: Závislost povrchového napětí na koncentraci kyselých soforolipidů

Z grafu bylo zjištěno, že povrchové napětí klesalo exponenciálně s narůstající koncentrací a bylo ustáleno v koncentraci $50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Pro měření stability pěny piva byly vybrány čtyři koncentrace ($10, 20, 30$ a $50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$). I když u koncentrace $30 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ bylo zjištěno povrchové napětí větší než u koncentrace $20 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, byla vybrána i tato hodnota pro další měření, protože mohla mít i jiný vliv na stabilitu pěny.

Článek zabývající se biologickou aktivitou soforolipidů uvádí, že každá struktura soforolipidů vykazuje jiné fyzikálně-chemické vlastnosti, a že laktonová forma soforolipidů má lepší schopnost snižování povrchového napětí a biologickou aktivitu [76]. Z výsledků měření povrchového napětí soforolipidů bylo toto tvrzení potvrzeno. Laktonová forma opravdu více snížila velikost povrchového napětí piva než kyselá forma.

4.6.3 Stanovení povrchového napětí piva s přidavkem rhamnolipidů

Jako poslední bylo měřeno povrchové napětí piva s přidavkem rhamnolipidů. Podobně jako u předchozích měření bylo vybráno osm koncentrací. Na základě závislosti povrchového napětí na koncentraci (Obr. 37) byly zvoleny hodnoty pro další měření.



Obr. 36: Závislost povrchového napětí na koncentraci rhamnolipidů

Z grafu bylo zjištěno, že povrchové napětí klesalo exponenciálně s narůstající koncentrací a bylo ustáleno v koncentraci $25 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Pro měření stability pěny piva byly vybrány tři koncentrace (10 , 25 a $50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$).

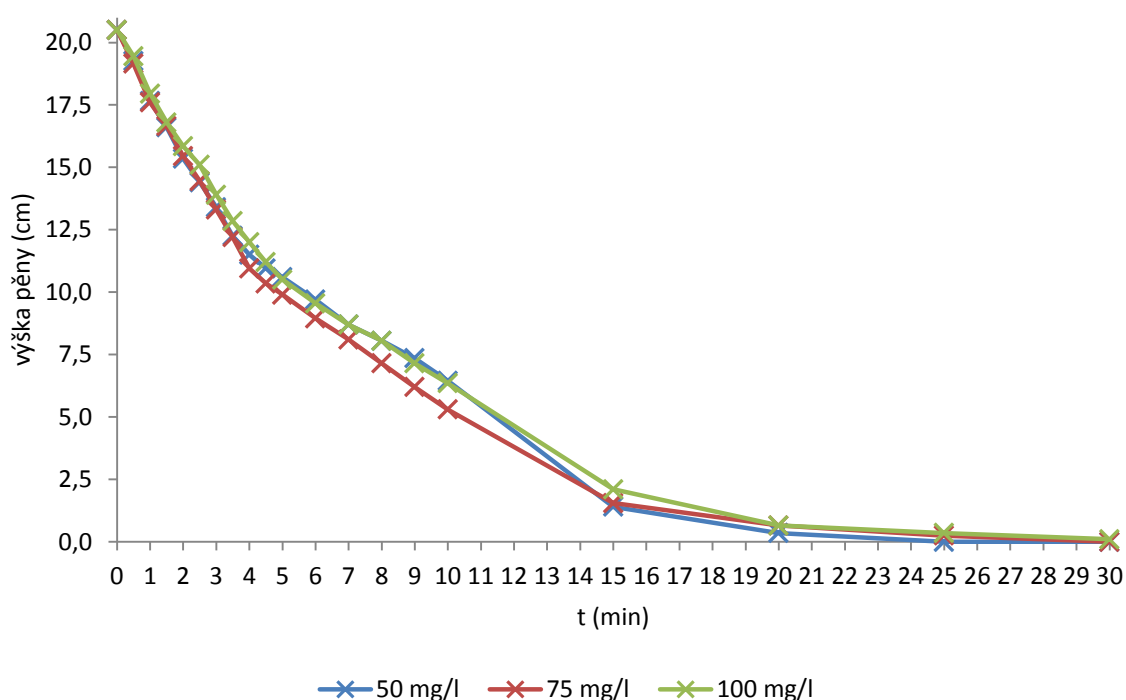
U studie zabývající se měřením povrchového napětí s přidavky rhamnolipidů bylo zjištěno, že s vyšší koncentrací rhamnolipidů klesá povrchové napětí [77]. Z grafů bylo pozorováno, že nejvíce povrchové napětí ovlivnil přídavek rhamnolipidů, které snížily hodnotu ST ze $46 \text{ nM} \cdot \text{m}^{-1}$ na $28 \text{ nM} \cdot \text{m}^{-1}$.

4.7 Měření stability pивní pěny podle Rudina s přídavkem biosurfaktantů

Z vybraných koncentrací biosurfaktantů byla poté změřena stabilita pěny piva podle Rudina. Metoda byla popsána v kapitole 3.6. Byla sledována výška pěny v určitých časech (viz Obr. 38). Byla sestavena závislost průměrné výšky pěny na čase u každého biosurfaktantu zvlášť. Dále byly podle závislosti sledovány statické rozdíly mezi vzorky.

4.7.1 Měření stability pěny s přídavkem saponinů

Nejprve byla měřena stabilita pěny u saponinů u třech koncentrací, které byly vybrány na základě stanovení povrchového napětí (viz kapitola 3.5). Byla sestavena závislost výšky pěny na čase a byl sledován průběh pádu.

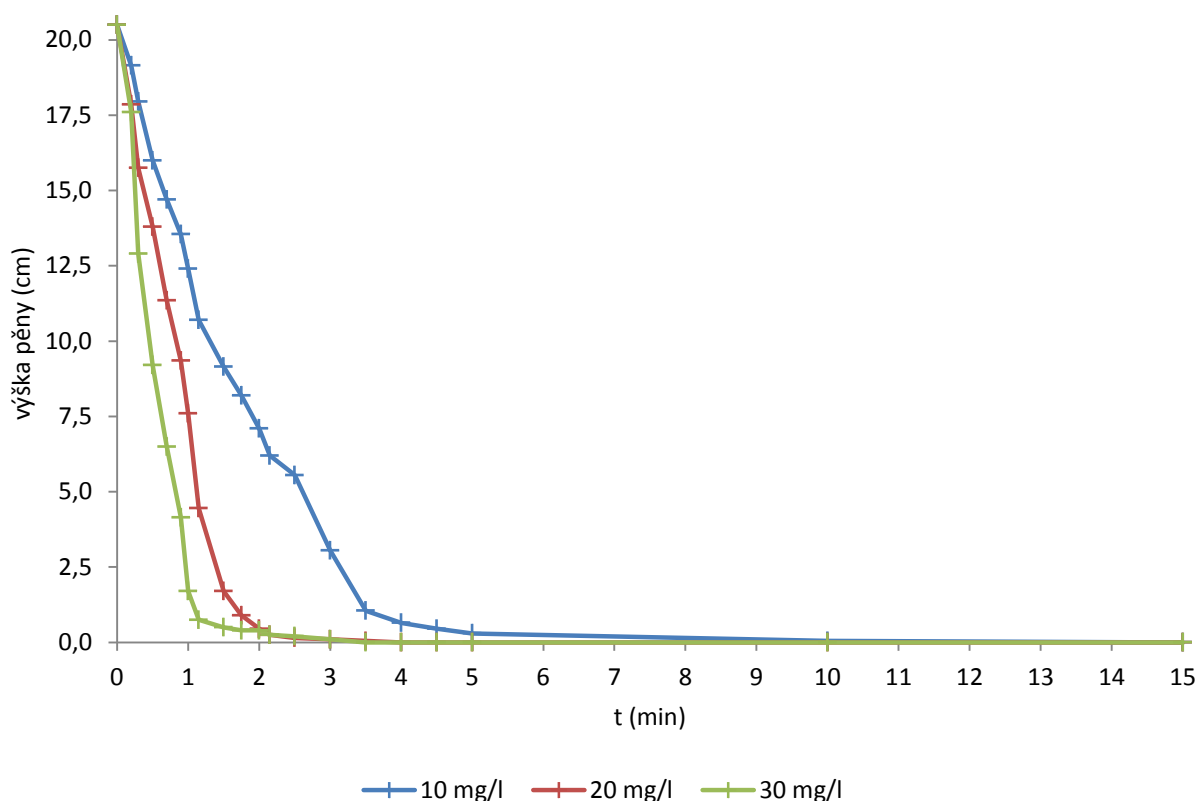


Obr. 37: Závislost výšky pěny na čase u přídavku saponinů do modelového piva

Bylo pozorováno, že pokles výšky pěny měl exponenciální průběh po dobu 30 minut. Bylo zjištěno, že nejrychleji padala pěna s koncentrací $75 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Ostatní koncentrace měly pád výšky pěny podobný. Bylo pozorováno, že od 15. minuty byly hodnoty výšek sloupců pěny podobné a hodnoty byly ustáleny. Ačkoli byly na obrázku 38 pozorovány určité výkyvy ve sloupcích pěny v čase u koncentrací, tak dle statické analýzy tyto rozdíly lze zanedbat.

4.7.2 Měření stability pěny piva s přídavkem soforolipidů (laktonová forma)

V druhém měření byla pozorována výška pěny na čase u přídavku laktonové formy soforolipidů. Na základě měření povrchového napětí (viz Kapitola 3.5) byly vybrány tři koncentrace pro toto stanovení. Byla sestavena závislost a sledován průběh poklesu pěny na čase.



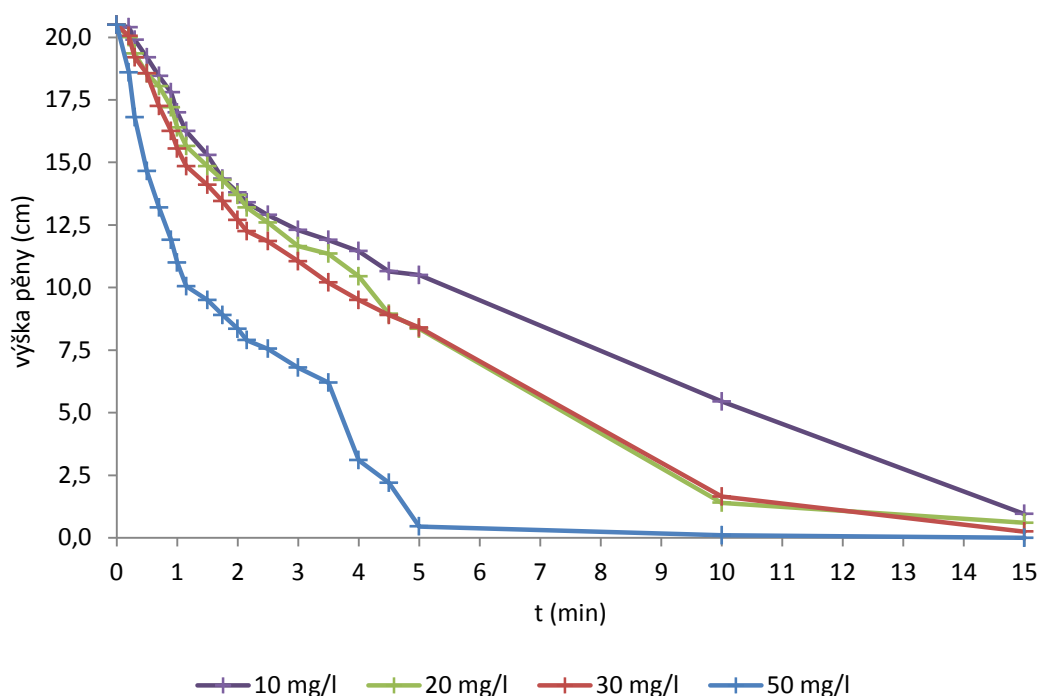
Obr. 38: Závislost výšky pěny na čase u přidavku laktonové formy soforolipidů v pивě

Na základě sestavení obrázku 39 bylo zjištěno, že nejrychlejší pokles pěny měla u soforolipidů laktonové formy koncentrace $30 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. U této koncentrace byl pád pěny velmi prudký. V čase 75 sekund byla výška pěny již $0,75 \text{ cm}$. Ke konci měření už pěna nebyla pozorována. Bylo pozorováno, že nejpomaleji padala pěna u koncentrace $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, kdy výška 1 cm byla dosažena až ve $3,5$. minutě, a potom byla výška pěny ustálena až do konce měření.

Bylo pozorováno, že v první minutě měření byly značné rozdíly ve výškách pěn. U koncentrace $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ byla změřena výška pěny $12,4 \text{ cm}$, u koncentrace $20 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ to bylo $7,6 \text{ cm}$ a poslední koncentrace byla velikost sloupce pěny $1,7 \text{ cm}$. Od třetí minuty již byly hodnoty výšek ustáleny a nebyla již pozorována pěna ve vzorku, a proto bylo měření ukončeno již po 15 minutách.

4.7.3 Měření stability pěny s přidavkem soforolipidů (kyselá forma)

V dalším měření byly použity soforolipidy – kyselá forma. Stabilita pěny piva s těmito přidanými biosurfaktanty byla měřena, a poté byla vynesena závislost výšky pěny na čase.



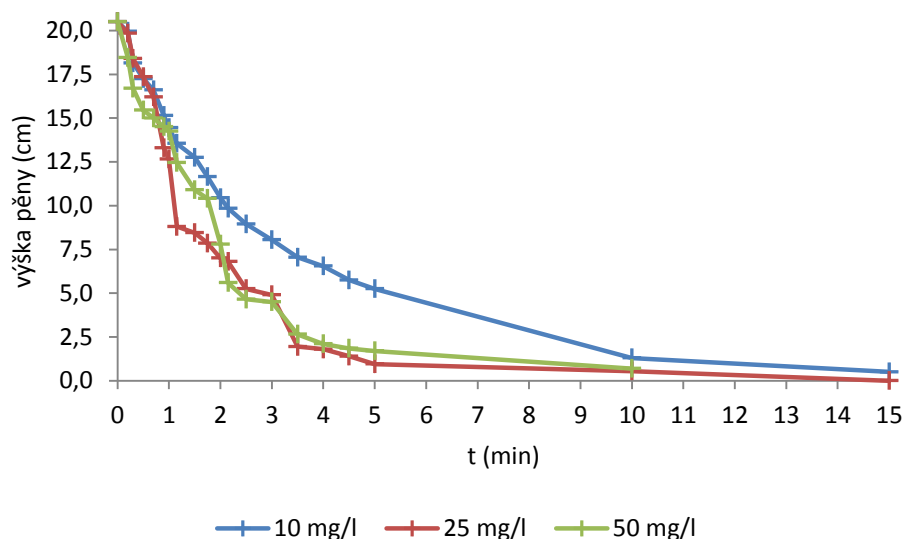
Obr. 39: Závislost výšky pěny v čase u přidavku kyselé formy soforolipidů v pivě

Na základě Obr. 40 bylo zjištěno, že pád pěny u koncentrace $50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ měl exponenciální průběh. Pivo s touto přídanou koncentrací klesalo nejrychleji ze všech vzorků. V páté minutě nebyla výška sloupce pěny vysoká, měla pouhých 0,45 cm. A na konci měření (15. minuta) vzorek pěny již neobsahoval. Nejpomaleji klesala pěna s přídanou koncentrací $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ soforolipidů. Bylo pozorováno, že od 2. minuty měl pád pěny spíše lineární charakter a v 15. minutě byla její velikost 0,6 cm.

Z grafu byly určeny kritické časy, ve kterých byly pozorovány a porovnávány vzorky. V první minutě bylo pozorováno, že vzorek o koncentraci $50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ měl již viditelně nižší výšku pěny než ostatní vzorky. To bylo také potvrzeno statickou analýzou. V páté minutě byl vzorek o stejné koncentraci též nejhorší, jeho velikost činila 0,45 cm, což byl rozdíl o 8–10 cm od ostatních vzorků. Jelikož byly výšky pěny u všech měření při 15. minutě malé, bylo stanovení v této době ukončeno.

4.7.4 Stabilita pěny piva s přidavkem rhamnolipidů

Jako poslední byla měřena stabilita pěny s přidavkem rhamnolipidů v pivě o koncentraci 10, 25 a $50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Poté byla sestavena závislost výšky pěny na čase a byly pozorovány rozdíly mezi vzorky.



Obr. 40: Závislost výšky pěny na čase s přidavkem rhamnolipidů v pivě

Z Obr. 41 bylo pozorováno, že nejpomaleji klesala pěna vzorku s koncentrací $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ rhamnolipidů. Výška pěny u této koncentrace byla ustálena v 10. minutě. Bylo dále vypořovováno, že pokles výšky sloupce pěny byl u obou dalších vzorků podobný, kromě úseku od první minuty po druhou, kde byl sledován rozdíl výšky pěn.

Byly vybrány určité časy a byly porovnány výšky pěny mezi sebou. V čase 75 sekund byly zjištěny podobné velikosti výšek sloupců pěny u vzorků o koncentraci 10 a $50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. To také bylo potvrzeno statickou analýzou, kdy vzorek o koncentraci $25 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ byl přiřazen do druhé skupiny.

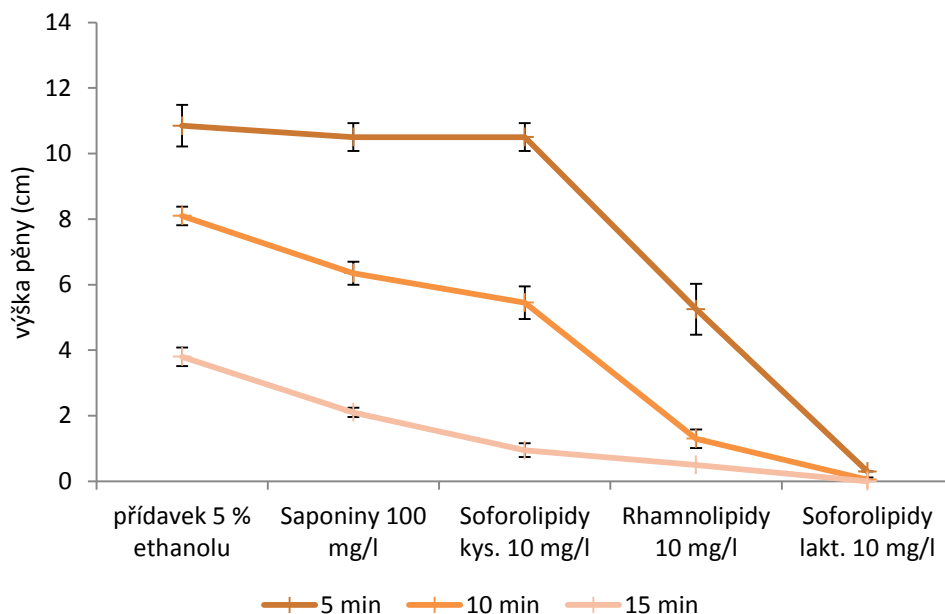
Bylo zjištěno, že v čase tří minut byla výška pěny u koncentrace 10 mg/l 8,05 cm. Ostatní vzorky měly velikost sloupce pěny 4,5–4,9 cm. Dle statické analýzy byl tento rozdíl potvrzen. V desáté minutě měly vzorky již podobné hodnoty (0,5–1,3 cm). V patnácté minutě již byla sledována zanedbatelná výška pивní pěny, proto bylo měření ukončeno již v tomto čase.

4.7.5 Porovnání výsledků stability pěny s přidavkem biosurfaktantů s modelovým pivem

Na základě výsledků byly vybrány koncentrace biosurfaktantů, u kterých byl sledován nejpomalejší pád pěny, tj. během měření vykazovaly nejvyšší výšku sloupce pěny. Pro každý biosurfaktant byla vždy vybrána jedna koncentrace. Tyto vzorky byly následně porovnány s modelovým pivem s přidavkem 5 % ethanolu, a to v závislosti výšky pěny na čase. Ze saponinů byla vybrána koncentrace 10 mg/l. U soforolipidů - laktonová forma byla zvolena koncentrace $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Stejná koncentrace byla vybrána u lineární formy soforolipidů a také u rhamnolipidů.

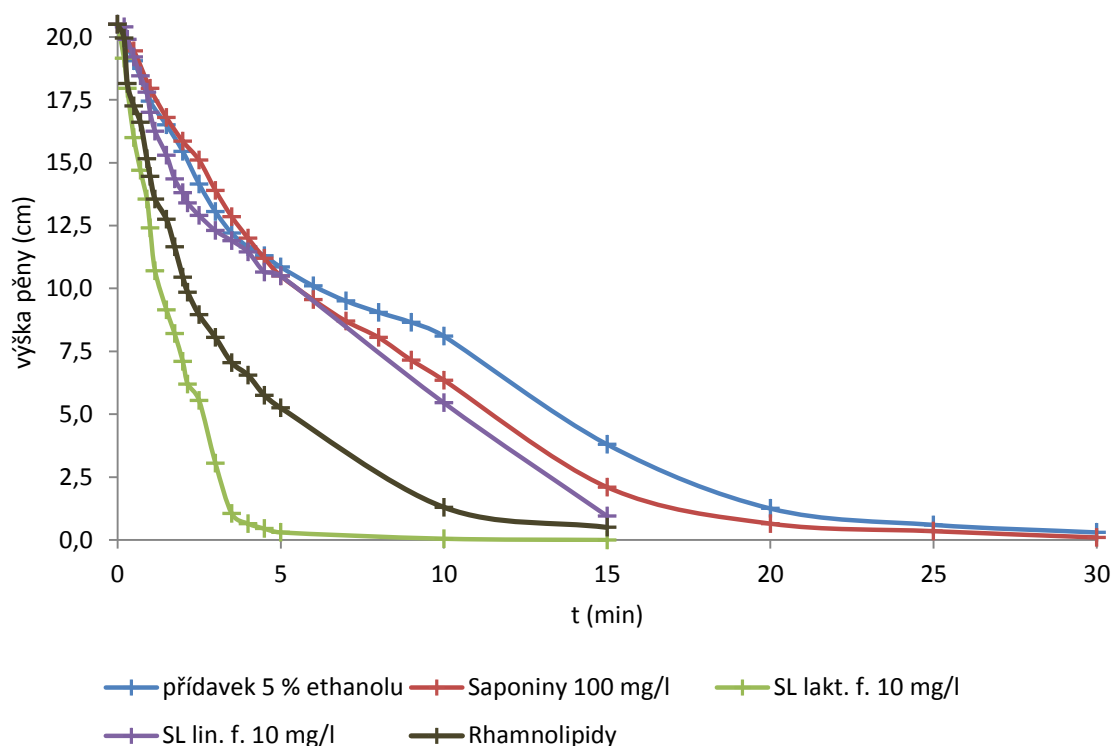
Ze závislosti bylo pozorováno, že lineární forma SL, saponiny a přidavek 5 % ethanolu měly podobný průběh pádu pěny. V 5. minutě byla výška pěn v rozmezí 10,5–10,85 cm. V desáté minutě byly sledovány již mezi těmito vzorky rozdíly. Pivo s přidavkem 5 % ethanolu měl výšku sloupce pěny 8,1 cm. Výška pěny u saponinů a kyselé formy SL byla

v rozmezí 5,45–6,35 cm tomto čase. V 15. minutě byla velikost pěny u vzorového piva 3,8 cm, u saponinů byla výška o 1,7 cm menší a u kyselé formy SL byla výška slupce pěny 0,5 cm (u tohoto biosurfaktantu bylo měření po 15. minutě ukončeno).



Obr. 41: Porovnání velikostí sloupců pěny v určitých časech mezi vzorovým pivem a přídavky biosurfaktantů

Rapidní rozdíl byl pozorován u výšek sloupců pěn u vzorků piv s přídavkem rhamnolipidů s koncentrací $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ a SL laktonové formy o stejné koncentraci. V páté minutě bylo pozorováno u piva s přídavkem rhamnolipidů, že výška pěny byla 5,25 cm, což je o 5,5 cm méně než mělo pivo s přídavkem 5 % ethanolu. Rychlost pádu pivní pěny u tohoto vzorku byla do páté minuty $3,1 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$. V desáté minutě byla výška piva změřena na 1,3 cm. V 15. minutě měření měla pivní pěna výšku 0,5 cm. U SL laktonové formy o koncentraci $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ byla výška sloupce pěny v čase 5 minut změřena na 0,3 cm. Rychlost pádu pěny do páté minuty byla u tohoto vzorku $4,04 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$. Od desáté minuty již nebyla pozorována pěna pozorována. V 15. minutě bylo měření ukončeno.



Obr. 42: Porovnání přídavku biosurfaktantů se vzorovým pivem

Ze závislosti výšky pěny na čase byl pozorován pád pивní pěny u všech zkoumaných vzorků. U vzorku SL laktonové formy byl sledován strmý pád, kdy ve čtvrté minutě byla výška pěny již 0,65 cm. Z grafu bylo zjištěno, že pád pěny u laktonové formy soforolipidů byl rychlejší než u kyselé formy. Studie zabývající se schopností tvorby pěny u soforolipidů zjistila, že kyselé formy mají lepší schopnost tvorby pěny, vyšší rozpustnost a umožňuje modifikaci na volné karboxylové kyselině než laktonová [76].

V rámci zkoumání stability pивní pěny dle Rudina byly testovány různé povrchově aktivní biomolekuly (saponiny, soforolipidy a rhamnolipidy) a bylo pozorováno, zda tyto biosurfaktanty pomohou docílit lepší pивní pěny (stabilní, déle držící). Z výsledků bylo zjištěno, že tyto přídavky nenapomohly ke zlepšení, ba dokonce pád pивní pěny byl urychlen a některá měření mohla být již po 15 minutách ukončena (na rozdíl od předchozích měření, která trvala 30 minut). Na základě výsledků z měření povrchového napětí bylo zjištěno, že biosurfaktanty snižovaly povrchové napětí piva, avšak jednalo se o povrchově aktivní látky lipidového charakteru, tudíž negativně působily na pěnu piva.

5 ZÁVĚR

Cílem této práce bylo sestavit a otestovat zařízení pro měření stability pěny piva. Stanovení byla provedena nejprve na vzorovém nealkoholickém pivě, do kterého byl spikován ethanol. Přídavek ethanolu byl v rozmezí 1–8 %. Záměrem tohoto měření bylo prozkoumat vliv ethanolu na stabilitu pěny. V tomto experimentu bylo zjištěno, že přidavkem ethanolu dochází ke změně charakteristiky pивní pěny, ale není jednoduché najít přímou korelaci mezi zvyšujícím se obsahem ethanolu a její stabilitou. Pro porovnání výsledků byla provedena měření stability pěny piva na komerčním pivě značky Bakalář. Bylo zjištěno, že stabilita pěny se chovala podobně jak u vzorového piva s přídavky ethanolu, tak u reálného. Menší rozdíly mohly být způsobené obsahem látek v pivu (hořké kyseliny, bílkoviny, kovové ionty, ad.).

V rámci práce byla také měřena stabilita pěny dle Rudina u nealkoholických piv (Zlatopramen, Bakalář). Byly pozorovány rozdíly v pádu pěny. Jelikož bylo nealkoholické pivo Bakalář chmeleno za studena, byly stanoveny koncentrace iso- α -hořkých kyselin (isokohumulon, isohumulon, isoadhumulon) ve vzorcích. Bylo zjištěno, že koncentrace isokohumulonu ve Zlatopramenu byla $2,074 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ a v Bakaláři $4,05 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Koncentrace isohumulonu byla změřena na $2,46 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ve Zlatopramenu a v druhém nealkoholickém pivu byla koncentrace této kyseliny stanovena na $5,615 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Jako poslední byl stanoven isoadhumulon. Ve Zlatopramenu byla jeho koncentrace $12,821 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ a ve vzorku Bakalář $15,486 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Z výsledků bylo patrné, že nealkoholické pivo Bakalář obsahovalo větší koncentrace iso- α -hořkých kyselin, a proto mělo i lepší stabilitu pěny.

Jelikož stanovení stability pěny podle Rudina je proces časově náročný, bylo na základě hypotézy (nižší povrchové napětí znamená vyšší výšku sloupce pěny) provedeno měření povrchového napětí jak ve vzorovém pivu, tak v reálném pivu. Byly sledovány korelace mezi vlivem ethanolu na povrchovém napětí a povrchovým napětím na výšku pěny v 10. minutě. Výsledky těchto měření ukázaly, že existuje propojení mezi obsahem alkoholu a povrchovým napětím. To znamenalo, že čím vyšší obsah alkoholu, tím nižší povrchové napětí. Korelace mezi ST a stabilitou pěny již tak velkou korelaci nevykazovaly. Proto možná náhrada stanovení povrchového napětí v pivu za měření stability pěny piva není možná.

Dalším cílem této práce bylo testování stability pěny piva s přidavkem povrchově aktivních biomolekul. Byly zvoleny saponiny, rhamnolipidy a soforolipidy (kyselé a laktonová forma). Na základě výsledků bylo vybráno modelové pivo (nealkoholické s přidavkem 5 % ethanolu), do kterého byly biosurfaktanty přidávány. Vzorek byl vybrán s ohledem na majoritní spotřebu konzumace piv s obsahem alkoholu 4–5 % v České republice piv. Nejprve byl sledován vliv aplikace biosurfaktantů na povrchovém napětí v různých koncentracích látek. Bylo pozorováno, že se zvyšující koncentrací biosurfaktantů klesalo povrchové napětí. Bylo pozorováno, že nejvíce povrchové napětí snížil přídavek rhamnolipidů (ze $46 \text{ nM} \cdot \text{m}^{-1}$ na $28 \text{ nM} \cdot \text{m}^{-1}$). Po těchto stanovení byly vybrány koncentrace biosurfaktantů (3–4), se kterými se dále pokračovalo v pozorování stability pěny piva.

V rámci zkoumání stability pивní pěny dle Rudina u povrchově aktivních biomolekul (saponiny, soforolipidy a rhamnolipidy) bylo pozorováno, zda tyto biosurfaktanty pomohou docílit lepší pивní pěny (stabilní, déle držící). Z výsledků bylo zjištěno, že tyto přídavky

nenapomohly ke zlepšení, ba dokonce pád pivní pěny byl urychlen a některá měření mohla být již po 15 minutách ukončena (na rozdíl od předchozích měření, která trvala 30 minut). Na základě výsledků z měření povrchového napětí bylo zjištěno, že biosurfaktanty snižovaly povrchové napětí piva, avšak jednalo se o povrchově aktivní látky lipidového charakteru, tudíž negativně působily na pěnu piva.

6 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] ČÍŽKOVÁ, Hana, Pavel DOSTÁLEK, Jaromír FIALA a Irena KOLOUCHOVÁ. Význam bílkovin z hlediska pěnivosti a stability pěny piva. *Chemické listy* [online]. 2006, **100**(7), 478-485 [cit. 2019-05-16]. Dostupné z: www.chemicke-listy.cz/docs/full/2006_07_478-485.pdf
- [2] WILSON, Ashley J. *Foams: Physics, Chemistry and Structure* [online]. 1. Berlin: Springer-Verlag, 1989 [cit. 2019-05-16]. ISBN 978-1-4471-3807-5. Dostupné z: DOI: 10.1007/978-1-4471-3807-5
- [3] EVANS, D. Evan a Charles W. BAMFORTH. Beer foam: achieving a suitable head. Beer. Elsevier, 2009, 2009, , 1-60. DOI: 10.1016/B978-0-12-669201-3.00001-4. ISBN 9780126692013. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780126692013000014>
- [4] *Co je co v povrchové a koloidní chemii* [online]. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2005 [cit. 2019-05-16]. Dostupné z: http://147.33.74.135/knihy/uid_es-001/
- [5] WEAIRE, D., G. VERBIST, S. J. COX a S. HUTZLER. *Frontiers of the physics of foams* [online]. Irsko: Trinity College, 2001, , 10-15 [cit. 2019-05-16].
- [6] RONTOLTAP, A. D. *Beer foam physics*. Wageningen University & Research, Netherlands, 1989. Disertace. Agricultural University. Vedoucí práce Prof. Dr. A. Prins
- [7] BAMFORTH, C.W. The Relative Significance of Physics and Chemistry for Beer Foam Excellence: Theory and Practice. *Journal of the Institute of Brewing* [online]. 2004, **110**(4), 259-266 [cit. 2019-05-16]. DOI: 10.1002/j.2050-0416.2004.tb00620.x. ISSN 00469750.
- [8] SAINT-JALMES, Arnaud. Physical chemistry in foam drainage and coarsening. *Soft Matter* [online]. 2006, **2**(10), 836-849 [cit. 2019-05-16]. DOI: 10.1039/b606780h. ISSN 1744-683X
- [9] ASANO, K. a A. HASHIMOTO. *Rep. Res.* Japonsko: Kirin Brewery, 1976, 19
- [10] SIMPSON, W. J. a P. S. HUGHES. Stabilization of foams by hop derived bitter acids. *Cerevisiae Biotechnology*. 1994, **19**, 39-44
- [11] ČEPIČKA, Jaroslav. Vliv chmelových látek na pěnivost piva. In: *Chmelářství* [online]. 2000 [cit. 2019-05-16]. Dostupné z: http://www.beers.cz/chmelar/2000/ch11_20c.html
- [12] CARROLL, T.C.N. *The effect of dissolved nitrogen gas on beer foam and palate* [online]. 1979, **16**(3), 116-119 [cit. 2019-05-16].
- [13] BAMFORTH, C. W. Perceptions of Beer Foam. *Journal of the Institute of Brewing* [online]. 2000, **106**(4), 229-238 [cit. 2019-05-16]. DOI: 10.1002/j.2050-0416.2000.tb00062.x. ISSN 00469750.
- [14] ROZA, J. R., C. E. WALLIN a C. W. BAMFORTH. *A comparison between instrumental 44 measurement of head retention/lacing and preceived foam quality*. Master Brew. Ass., 2006, **43**, 173-176.
- [15] SMYTH, J. E., M. A. O'MAHONY a C. W. BAMFORTH. *The impact of appearance of beer on its perception*. J. Inst. Brew, 2002, **108**, 37-42.

- [16] ŠAVEL, J. a M. PROKOPOVÁ. Measurement of beer foaming. *Kvasny Prumysl* [online]. 1986, **32**(7), 156-158 [cit. 2019-05-16]. DOI: 10.18832/kp1986039. ISSN 00235830.
- [17] KLOPPER, W. J. *Foam stability and foam cling*. Salzburg: Euro. Brew. Conv. Cong. Proc., **29**(14), 363-371
- [18] KLOPPER, W. J. a H. A. VERMEIRE. *Zur Bestimmung der Schaumhaltbarkeit des Bieres. Neue Methoden und Erkenntnisse. Brauwissenschaft*, 1977, (30), 276-278
- [19] WACKERBAUER, K. a h. GREIF. *Schaummessungen mit dem Nibem-Foam-Stability-Tester*. Brauwissenschaft, 1980, (33), 123-126.
- [20] SAVEL, J. a G. BASAROVA. *Eine neue Methode zur Bestimmung der Schaumhaltbarkeit von Bier*. Brauwissenschaft, 1991, (44), 372-376.
- [21] DALE, Christopher, Christopher WEST, Jeremy EADE, Marco RITO-PALOMARES a Andrew LYDDIATT. Studies on the physical and compositional changes in collapsing beer foam. *Chemical Engineering Journal* [online]. 1999, **72**(1), 83-89 [cit. 2019-05-16]. DOI: 10.1016/S1385-8947(98)00141-7. ISSN 13858947.
- [22] SCHERMBACH, R. *Bestimmung der Schaumhaltbarkeit mit der Lichtschranke*. 1980, (33), 193-195
- [23] WILSON, P. J. a A. P. MUNDY. AN IMPROVED METHOD FOR MEASURING BEER FOAM COLLAPSE. *Journal of the Institute of Brewing* [online]. 1984, 1993, **90**(6), 385-388 [cit. 2019-05-16]. DOI: 10.1002/j.2050-0416.1984.tb04294.x. ISSN 00469750
- [24] Haffmans NIBEM Foam Stability Tester. In: *PENTAIR - FOOD AND BEVERAGE* [online]. [cit. 2019-05-16]. Dostupné z: <https://foodandbeverage.pentair.com/en/products/haffmans-nibem-foam-stability-tester>
- [25] Sampling device. In: *Lg-automatic* [online]. [cit. 2019-05-16]. Dostupné z: http://www.lg-automatic.com/Products/Sampling%20Device/Sampling_Device.html
- [26] ANGER, H. M., L. GLAR a M. SCHOLZ. *A new process for foam stability measurement*. Foam-tester from Lg-automatic. Dánsko: Brauwelt. Int., 2002, (20), 146-150
- [27] LUNKENHEIMER, Klaus a Kazimierz MALYSA. A simple automated method of quantitative characterization of foam behaviour. *Polymer International* [online]. 2003, **52**(4), 536-541 [cit. 2019-05-16]. DOI: 10.1002/pi.1105. ISSN 0959-8103. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/pi.1105>
- [28] HAUGSTED, C., M. B. PEDERSEN a K. ERSAL. *An opto-electrical foam assay system*. Monatschrift Brauwiss., 1990, (43), 336-339.
- [29] MULRONEY, A. R., R. V. WENN, J. OORTWYN a R. R. WILLIAMSON. *The measurement of beer foam using a new laser-based video device*. Maastricht: Proc. Eur. Brew. Congr, 1997, (73), 615-622
- [30] HEPWORTH, Neil J., Jonathan W.R. BOYD, John R.M. HAMMOND a Julie VARLEY. Modelling the effect of liquid motion on bubble nucleation during beer dispense. *Chemical Engineering Science* [online]. 2003, **58**(17), 4071-4084 [cit. 2019-

- 05-16]. DOI: 10.1016/S0009-2509(03)00266-5. ISSN 00092509. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009250903002665>
- [31] JORGE, K., A. NOTHAFT a L. C. TRUGO. *Concept of a foam analysis system using machine vision technologies*. Techn. Q. Master Brew. Assoc. Am., 2003, (40), 108-110
- [32] NIEMSCH, Klaus a Heinrich THEODOR. Current problems of colloidal haze of beer. *Kvasny Prumysl* [online]. 2006, **52**(1), 7-8 [cit. 2019-05-16]. DOI: 10.18832/kp2006033. ISSN 00235830. Dostupné z: <http://kvasnyprumysl.cz/doi/10.18832/kp2006033.html>
- [33] VIJAYAKUMA, S. a V. SARAVANAN. Biosurfactants-Types, Sources and Applications. *Research Journal of Microbiology* [online]. 2015, **10**(5), 181-192 [cit. 2019-05-16]. DOI: 10.3923/jm.2015.181.192. ISSN 18164935. Dostupné z: <http://www.scialert.net/abstract/?doi=jm.2015.181.192>
- [34] VOLKERING, F., A.M. BREURE a W.H. RULKENS. Microbiological Aspects of Surfactant Use for Biological Soil Remediation. *Biodegradation* [online]. 1997, **8**(6), 401-417 [cit. 2019-05-16]. DOI: 10.1023/A:1008291130109. ISSN 09239820. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1023/A:1008291130109>
- [35] BANAT, Ibrahim M., Andrea FRANZETTI, Isabella GANDOLFI, Giuseppina BESTETTI, Maria G. MARTINOTTI a Letizia FRACCHIA. Microbial biosurfactants production, applications and future potential. *Applied Microbiology and Biotechnology* [online]. 2010, **87**(2), 427-444 [cit. 2019-05-16]. DOI: 10.1007/s00253-010-2589-0. ISSN 0175-7598. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00253-010-2589-0>
- [36] KARANTH, N. G. K., P. G. DEO a N. K. VEENANADIG. Microbial production of biosurfactants and their importance. *Curr. Sci.* 1999, (77), 116-126.
- [37] OLIVERA, N. L., M. G. COMMENDATORE, O. DELGADO a J. L. ESTEVES. Microbial characterization and hydrocarbon biodegradation potential of natural bilge waste microflora. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* [online]. 2003, **30**(9), 542-548 [cit. 2019-05-16]. DOI: 10.1007/s10295-003-0078-5. ISSN 1367-5435. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s10295-003-0078-5>
- [38] CHAKRABARTI, Sneha. *Bacterial biosurfactant: characterization, antimicrobial and metal remediation properties*. Rourkela, 2012. Disertace. National institute of technology. Vedoucí práce Dr.Surajit Das
- [39] DESAI, J. D. a I. M. BANAT. Microbial production of surfactants and their commercial potential. *Microbiol Mol Biol Rev.* 1997, **61**(1), 47-64.
- [40] COOPER, D. G., C. R. MACDONALD, S. J. B. DUFF a N. KOSARIC. Enhanced Production of Surfactin from *Bacillus subtilis* by Continuous Product Removal and Metal Cation Additions. *Appl Environ Microbiol.* 1981, **42**(3), 408-412.
- [41] CAMEOTRA, S a R MAKKAR. Recent applications of biosurfactants as biological and immunological molecules. *Current Opinion in Microbiology* [online]. 2004, **7**(3), 262-266 [cit. 2019-05-16]. DOI: 10.1016/j.mib.2004.04.006. ISSN 13695274. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S136952740400044X>

- [42] SINGH, Pooja a Swaranjit Singh CAMEOTRA. Potential applications of microbial surfactants in biomedical sciences. *Trends in Biotechnology* [online]. 2004, **22**(3), 142-146 [cit. 2019-05-16]. DOI: 10.1016/j.tibtech.2004.01.010. ISSN 01677799. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167779904000265>
- [43] MULLIGAN, C.N., R.N. YONG a B.F. GIBBS. Remediation technologies for metal-contaminated soils and groundwater: an evaluation. *Engineering Geology* [online]. 2001, **60**(1-4), 193-207 [cit. 2019-05-16]. DOI: 10.1016/S0013-7952(00)00101-0. ISSN 00137952. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0013795200001010>
- [44] MOHAN, Prasanna K., George NAKHLA a Ernest. K. YANFUL. Biokinetics of biodegradation of surfactants under aerobic, anoxic and anaerobic conditions. *Water Research* [online]. 2006, **40**(3), 533-540 [cit. 2019-05-16]. DOI: 10.1016/j.watres.2005.11.030. ISSN 00431354. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135405006755>
- [45] CAVALERO, D. A. a D. G. COOPER. The effect of medium composition on the structure and physical state of sophorolipids produced by *Candida bombicola* ATCC 22214. *J Biotechnol.* 2003, **103**(1), 31-41
- [46] HOOD, S.K. a E.A. ZOTTOLA. Biofilms in food processing. *Food Control* [online]. 1995, **6**(1), 9-18 [cit. 2019-05-16]. DOI: 10.1016/0956-7135(95)91449-U. ISSN 09567135. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/095671359591449U>
- [47] ZOTTOLA, E. A. Microbial Attachment and Biofilm Formation: A New Problem for the Food Industry?. *Food Technology*. 1994, **48**, 107-114
- [48] PORNUNTHORNTAWEE, Orathai, Panya WONGPANIT a Ratana RUJIRAVANIT. Rhamnolipid Biosurfactants: Production and their Potential in Environmental Biotechnology. *Biosurfactants* [online]. New York, NY: Springer New York, 2010, 2010, , 211-221 [cit. 2019-05-16]. Advances in Experimental Medicine and Biology. DOI: 10.1007/978-1-4419-5979-9_16. ISBN 978-1-4419-5978-2. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4419-5979-9_16
- [49] SEKHON RANDHAWA, Kamaljeet K. a Pattanathu K. S. M. RAHMAN. Rhamnolipid biosurfactants: past, present, and future scenario of global market. *Frontiers in Microbiology* [online]. 2014, **5**(454), 1-7 [cit. 2019-05-16]. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00454. ISSN 1664-302X. Dostupné z: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2014.00454/abstract>
- [50] RAHMAN, Pattanathu K.S.M. a Edward GAKPE. Production, Characterisation and Applications of Biosurfactants-Review. *Biotechnology(Faisalabad)* [online]. 2008, **7**(2), 360-370 [cit. 2019-05-16]. DOI: 10.3923/biotech.2008.360.370. ISSN 1682296X. Dostupné z: <http://www.scialert.net/abstract/?doi=biotech.2008.360.370>
- [51] MAGALHÃES, Luana a Marcia NITSCHKE. Antimicrobial activity of rhamnolipids against *Listeria monocytogenes* and their synergistic interaction with nisin. *Food Control* [online]. 2013, **29**(1), 138-142 [cit. 2019-05-16]. DOI: 10.1016/j.foodcont.2012.06.009. ISSN 09567135. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713512003386>

- [52] SACHDEV, Dhara P. a Swaranjit S. CAMEOTRA. Biosurfactants in agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology* [online]. 2013, **97**(3), 1005-1016 [cit. 2019-05-16]. DOI: 10.1007/s00253-012-4641-8. ISSN 0175-7598. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00253-012-4641-8>
- [53] VAN BOGAERT, I, K CIESIELSKA, B DEVREESE a W SOETAERT. Sophorolipids: Microbial Synthesis and Application. *Biosurfactants* [online]. CRC Press, 2014, 2014-11-04, , 19-36 [cit. 2019-05-16]. DOI: 10.1201/b17599-4. ISBN 978-1-4665-9669-6. Dostupné z: <http://www.crcnetbase.com/doi/abs/10.1201/b17599-4>
- [54] KITAMOTO, D., H. ISODA a T. NAKAHARA. Functions and potential applications of glycolipid biosurfactants--from energy-saving materials to gene delivery carriers. *J Biosci Bioeng.* 2002, **94**(3), 187-201
- [55] GORIN, P. A. J., J. F. T. SPENCER a A. P. TULLOCH. Hydroxy fatty acid glycosides of sophorose from *Torulopsis magnolia*. *Can. J. Chem.* 1961, **39**, 846-855
- [56] VIJAYAKUMA, S. a V. SARAVANAN. Biosurfactants-Types, Sources and Applications. *Research Journal of Microbiology* [online]. 2015, **10**(5), 181-192 [cit. 2019-05-16]. DOI: 10.3923/jm.2015.181.192. ISSN 18164935. Dostupné z: <http://www.scialert.net/abstract/?doi=jm.2015.181.192>
- [57] HU, Y. a L. JU. Purification of lactonic sophorolipids by crystallization. *J Biotechnol.* 2001, **87**(3), 263-272.
- [58] DE OLIVEIRA, Marcos Roberto, Agnes MAGRI, Cristiani BALDO a Doumit CAMILIOS-NETO. Review: Sophorolipids A Promising Biosurfactant and it's Applications. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research.* 2015, **6**(2), 161-174. ISSN 0976-2612
- [59] DAVILA, Anne-Marie, Rémy MARCHAL a Jean-Paul VANDECASTEELE. Sophorose lipid production from lipidic precursors: Predictive evaluation of industrial substrates. *Journal of Industrial Microbiology.* 1994, **13**(4), 249-257
- [60] HAYES, Douglas G., Daniel K. SOLAIMAN a Richard D. ASHBY. *Biobased Surfactants: Synthesis, Properties, and Applications.* 2. Academic Press, 2019. ISBN 9780128127063
- [61] KIM, K. a D. YOO. Characteristics of sophorolipid as an antimicrobial agent. *Journal of Microbiology and Biotechnology.* 2002, **12**(2), 235-241.
- [62] SHAO, Zongze. Trehalolipids. *Biosurfactants.* Berlin: Springer-Verlag, 2011, s. 121-143. ISBN 978-3-642-14489-9.
- [63] NITSCHKE, Marcia a Glaucia Maria PASTORE. Production and properties of a surfactant obtained from *Bacillus subtilis* grown on cassava wastewater. *Bioresource Technology* [online]. 2006, **97**(2), 336-341 [cit. 2019-05-16]. DOI: 10.1016/j.biortech.2005.02.044. ISSN 09608524. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S096085240500129X>
- [64] MCINERNEY, Michael J., M. JAVAHERI a David P. NAGLE. Properties of the biosurfactant produced by *Bacillus licheniformis* strain JF-2. *Journal of Industrial Microbiology* [online]. 1990, **5**(2-3), 95-101 [cit. 2019-05-16]. DOI:

- 10.1007/BF01573858. ISSN 0169-4146. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/BF01573858>
- [65] COOPER, D. G. a D. A. PADDOCK. Production of a Biosurfactant from *Torulopsis bombicola*. *Appl Environ Microbiol.* [online]. 1984, **47**(1), 173-176 [cit. 2019-05-16].
- [66] CHEN, Yu-Fen, Chao-Hsun YANG, Ming-Shiang CHANG, Yong-Ping CIOU a Yu-Chun HUANG. Foam Properties and Detergent Abilities of the Saponins from *Camellia oleifera*. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2010, **11**(11), 4417-4425 [cit. 2019-05-16]. DOI: 10.3390/ijms11114417. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1422-0067/11/11/4417>
- [67] DUBJAKOVÁ, Eva. *Metody mnohonásobného porovnávání pro jednoduché třídění*. Brno, 2009. Diplomová práce. Masarykova univerzita. Vedoucí práce RNDr. Marie Budíková, Dr
- [68] SIEBERT, Karl J. Recent Discoveries in Beer Foam. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* [online]. 2018, **72**(2), 79-87 [cit. 2019-05-16]. DOI: 10.1094/ASBCJ-2014-0319-01. ISSN 0361-0470. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1094/ASBCJ-2014-0319-01>
- [69] BRIERLEY, Ewen R. The Influence of Ethanol on the Foaming Properties of Beer Protein Fractions: A Comparison of Rudin and Microconductivity Methods of Foam Assessment. *Journal of the Science of Food and Agriculture* [online]. 1996, **70**(4), 531-537 [cit. 2019-05-16]. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0010(199604)70:4<531::AID-JSFA533>3.0.CO;2-3.
- [70] MELM, G., P. TUNG a A. PRINGLE. Mathematical Modeling of Beer Foam. *Master I Brew. Ass. Am. Tech. Quart.* 1995, (32), 6-10.
- [71] BAMFORTH, C. W. Bringing matters to a head: The status of research on beer foam. *European Brewery Convention: Monograph 27*. Netherlands, 1998, , 1-10
- [72] KITABATAKE, Naofumi a Etsushiro DOI. Surface Tension and Foaming of Protein Solutions. *Journal of Food Science* [online]. 1982, (47), 1218-1221 [cit. 2019-05-16]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1982.tb07651.x>
- [73] BAMFORTH, C. W. a M. KANAUCHI. Interactions between polypeptides derived from barley and other beer components in model foam systems. *Journal of the Science of Food and Agriculture* [online]. 2003, **83**(10), 1045-1050 [cit. 2019-05-16]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/jsfa.1503>
- [74] LUŠTINEC, Ondřej. 138 litrů. Češi loni vypili nejméně piva za posledních padesát let. In: *IROZHLAS* [online]. Praha, 2018 [cit. 2019-05-16]. Dostupné z: https://www.irozhlas.cz/ekonomika/pivo-litry-spotreba-cesi-2018_1804181002_ako
- [75] BÖTTGER, Stefan, Katja HOFMANN a Matthias F. MELZIG. *Saponins can perturb biologic membranes and reduce the surface tension of aqueous solutions: A correlation?* [online]. 2012, **20**(9), 2822-2828 [cit. 2019-05-16]. DOI: 10.1016/j.bmc.2012.03.032. ISSN 09680896. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0968089612002222>
- [76] BORSANYIOVA, Maria, Amrita PATIL, Ruchira MUKHERJI, Asmita PRABHUNE a Shubhada BOPEGAMAGE. Biological activity of sophorolipids and their possible use as antiviral agents. *Folia Microbiologica* [online]. 2016, **61**(1), 85-89 [cit. 2019-

- 05-16]. DOI: 10.1007/s12223-015-0413-z. ISSN 0015-5632. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s12223-015-0413-z>
- [77] MENDES, Anderson Nogueira, Livia Alves FILGUEIRAS, José Carlos PINTO a Marcio NELE. Physicochemical Properties of Rhamnolipid Biosurfactant from *Pseudomonas aeruginosa* PA1 to Applications in Microemulsions. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology* [online]. 2015, **06**(01), 64-79 [cit. 2019-05-16]. DOI: 10.4236/jbnb.2015.61007. ISSN 2158-7027. Dostupné z: <http://www.scirp.org/journal/doi.aspx?DOI=10.4236/jbnb.2015.61007>

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

ANOVA	analýza rozptylu
DAD	detektor diodového pole
HMW	High Molecular Weight
HPLC	vysoko účinná kapalinová chromatografie
KMK	kritická micelární koncentrace
LMW	Low Molecular Weight
SL	soforolipidy
ST	povrchové napětí

8 PŘÍLOHY

8.1 Tabulky výsledků měření stability pěny dle Rudina ve vzorovém pivu s přísadkou ethanolu

Tab. 6: Výsledky měření stability pěny piva u vzorového piva

Nealko			
měření	1.	2.	
t (min)	h (cm)	h (cm)	Øh (cm)
0	20,5	20,5	20,50
0,5	18,0	18,7	18,35
1,0	16,6	17,0	16,80
1,5	15,5	15,8	15,65
2,0	14,6	14,8	14,70
2,5	13,8	13,8	13,80
3,0	12,8	13,0	12,90
3,5	11,4	12,3	11,85
4,0	10,6	9,6	10,10
4,5	10,0	9,2	9,60
5,0	9,4	9,0	9,20
6,0	8,0	8,6	8,30
7,0	7,1	7,9	7,50
8,0	6,8	6,6	6,70
9,0	5,6	5,4	5,50
10,0	4,7	4,1	4,40
15,0	1,8	1,6	1,70
20,0	1,5	1,0	1,25
25,0	1,0	0,4	0,70
30,0	0,5	0,2	0,35
T (°C)	20,6	21,9	21,3
t _p (s)	20	18	19,0

1%			
měření	1.	2.	
t (min)	h (cm)	h (cm)	Øh (cm)
0	20,5	20,5	20,50
0,5	19,0	18,8	18,90
1,0	17,2	17,6	17,40
1,5	16,0	15,9	15,95
2,0	14,4	14,1	14,25
2,5	13,1	13,2	13,15
3,0	12,0	12,0	12,00
3,5	11,2	10,6	10,90
4,0	10,9	10,2	10,55
4,5	10,5	10	10,25
5,0	10,1	9,7	9,90
6,0	9,8	9,3	9,55
7,0	9,1	9,0	9,05
8,0	8,6	8,7	8,65
9,0	8,2	8,2	8,20
10,0	8,0	7,7	7,85
15,0	4,6	2,6	3,60
20,0	1,5	1,6	1,55
25,0	0,6	0,6	0,60
30,0	0,5	0,4	0,45
T (°C)	22,7	22,9	22,8
t _p (s)	15	13	14,0

2%			
měření	1.	2.	
t (min)	h (cm)	h (cm)	Øh (cm)
0	20,5	20,5	20,50
0,5	19,3	19,4	19,35
1,0	17,5	18,1	17,80
1,5	15,8	17,4	16,60
2,0	13,4	16,2	14,80
2,5	12,5	15,1	13,80
3,0	11,9	13,8	12,85
3,5	11,5	13,4	12,45
4,0	11,3	13,1	12,20
4,5	10,9	12,8	11,85
5,0	10,7	11,5	11,10
6,0	10,4	10,4	10,40
7,0	9,9	10,0	9,95
8,0	9,3	8,9	9,10
9,0	7,6	8,6	8,10
10,0	7,2	8,1	7,65
15,0	4,1	4,9	4,50
20,0	1,8	1,9	1,85
25,0	1,3	1,3	1,30
30,0	1,1	0,9	1,00
T (°C)	22,2	21,9	22,1
t _p (s)	18	16	17,0

Tab. 7: Výsledky měření stability pěny piva u vzorového piva

3%			
měření	1.	2.	
t (min)	h (cm)	h (cm)	Øh (cm)
0	20,5	20,5	20,50
0,5	18,5	19,1	18,80
1,0	16,8	17,6	17,20
1,5	15,4	16,1	15,75
2,0	13,8	14,3	14,05
2,5	13,0	13,5	13,25
3,0	11,4	12,2	11,80
3,5	10,9	11,4	11,15
4,0	10,6	11,1	10,85
4,5	10,3	10,9	10,60
5,0	10,0	10,7	10,35
6,0	9,7	10,3	10,00
7,0	9,0	9,9	9,45
8,0	7,9	9,5	8,70
9,0	7,6	8,6	8,10
10,0	7,3	7,7	7,50
15,0	3,3	3,1	3,20
20,0	1,5	1,5	1,50
25,0	1,2	1,1	1,15
30,0	0,4	0,6	0,50
T (°C)	22,3	21,5	21,9
t _p (s)	12	13	12,5

4%			
měření	1.	2.	
t (min)	h (cm)	h (cm)	Øh (cm)
0	20,5	20,5	20,50
0,5	18,9	18,8	18,85
1,0	18,0	17,5	17,75
1,5	16,7	17,0	16,85
2,0	14,5	14,9	14,70
2,5	13,6	13,8	13,70
3,0	12,8	13,4	13,10
3,5	12,0	11,7	11,85
4,0	11,4	10,8	11,10
4,5	11,0	10,3	10,65
5,0	10,7	10,1	10,40
6,0	10,4	9,6	10,00
7,0	9,4	9,0	9,20
8,0	8,7	8,7	8,70
9,0	8,3	8,4	8,35
10,0	7,8	7,2	7,50
15,0	3,9	3,3	3,60
20,0	2,0	1,7	1,85
25,0	0,7	1,0	0,85
30,0	0,5	0,6	0,55
T (°C)	21,7	21,8	21,8
t _p (s)	16	15	15,5

5%			
měření	1.	2.	
t (min)	h (cm)	h (cm)	Øh (cm)
0	20,5	20,5	20,50
0,5	19,0	19,1	19,05
1,0	17,4	17,5	17,45
1,5	16,5	16,5	16,50
2,0	15,6	15,3	15,45
2,5	13,9	14,4	14,15
3,0	12,5	13,6	13,05
3,5	11,4	13,0	12,20
4,0	11,1	12,2	11,65
4,5	10,8	11,8	11,30
5,0	10,4	11,3	10,85
6,0	9,6	10,6	10,10
7,0	9,0	10,0	9,50
8,0	8,8	9,3	9,05
9,0	8,4	8,9	8,65
10,0	8,3	7,9	8,10
15,0	3,6	4,0	3,80
20,0	1,4	1,1	1,25
25,0	0,6	0,6	0,60
30,0	0,3	0,3	0,30
T (°C)	22,4	23,1	22,8
t _p (s)	15	17	16,0

Tab. 8: Výsledky měření stability pěny piva u vzorového piva

6%			
měření	1.	2.	
t (min)	h (cm)	h (cm)	Øh (cm)
0	20,5	20,5	20,50
0,5	18,4	19,3	18,85
1,0	16,2	18,0	17,10
1,5	14,6	16,6	15,60
2,0	13,2	14,9	14,05
2,5	12,3	14,0	13,15
3,0	11,6	12,1	11,85
3,5	10,8	11,6	11,20
4,0	10,2	11,2	10,70
4,5	9,8	10,8	10,30
5,0	9,2	10,6	9,90
6,0	8,4	10,1	9,25
7,0	7,9	9,8	8,85
8,0	7,8	8,8	8,30
9,0	7,5	7,8	7,65
10,0	7,3	6,7	7,00
15,0	2,7	2,2	2,45
20,0	0,3	1,0	0,65
25,0	0,2	0,4	0,30
30,0	0,0	0,2	0,10
T (°C)	22,8	21,8	22,3
t _p (s)	14	15	14,5

7%			
měření	1.	2.	
t (min)	h (cm)	h (cm)	Øh (cm)
0	20,5	20,5	20,50
0,5	18,7	19,0	18,85
1,0	17,3	17,7	17,50
1,5	16,4	16,3	16,35
2,0	15,4	14,5	14,95
2,5	14,3	13,5	13,90
3,0	13,3	12,6	12,95
3,5	12,4	12,3	12,35
4,0	11,3	11,6	11,45
4,5	10,8	11,0	10,90
5,0	10,3	10,8	10,55
6,0	10,1	10,5	10,30
7,0	9,8	10,1	9,95
8,0	9,2	9,0	9,10
9,0	8,5	8,6	8,55
10,0	7,9	8,3	8,10
15,0	5,9	4,9	5,40
20,0	1,8	1,2	1,50
25,0	1,0	0,4	0,70
30,0	0,4	0,1	0,25
T (°C)	22,2	22,4	22,3
t _p (s)	16	19	17,5

8%			
měření	1.	2.	
t (min)	h (cm)	h (cm)	Øh (cm)
0	20,5	20,5	20,50
0,5	19,5	19,5	19,50
1,0	18,4	18,3	18,35
1,5	16,5	16,6	16,55
2,0	15,0	13,6	14,30
2,5	12,9	13,0	12,95
3,0	12,4	12,3	12,35
3,5	12,1	12,0	12,05
4,0	11,5	11,5	11,50
4,5	11,3	10,9	11,10
5,0	11,1	10,9	11,00
6,0	10,5	10,4	10,45
7,0	10,0	10,0	10,00
8,0	9,6	9,2	9,40
9,0	9,2	8,4	8,80
10,0	9,0	8,0	8,50
15,0	4,7	3,9	4,30
20,0	1,0	0,8	0,90
25,0	0,3	0,4	0,35
30,0	0,0	0,0	0,00
T (°C)	21,5	21,7	21,6
t _p (s)	16	18	17,0

8.2 Tabulky výsledků měření stability pěny piva dle Rudina u komerčních piv

Tab. 9: Výsledky měření stability pěny piva u komerčního piva

Bakalář - 0,5 %			
měření	1.	2.	
t (min)	h (cm)	h (cm)	Øh (cm)
0,0	20,5	20,5	20,50
0,5	17,8	18,3	18,05
1,0	16,7	17,5	17,10
1,5	15,1	16,6	15,85
2,0	14,4	14,5	14,45
2,5	13,6	13,9	13,75
3,0	13,0	13,6	13,30
3,5	12,3	13,3	12,80
4,0	11,9	11,5	11,70
4,5	11,5	10,4	10,95
5,0	11,2	10,2	10,70
6,0	11,0	8,6	9,80
7,0	8,5	7,8	8,15
8,0	7,8	6,3	7,05
9,0	7,4	6,0	6,70
10,0	6,9	5,1	6,00
15,0	4,5	2,4	3,45
20,0	1,7	0,5	1,10
25,0	0,6	0,0	0,30
30,0	0,0	0,0	0,00
T (°C)	20,7	22,7	21,7
t _p (s)	18	20	19,0

Bakalář - 4 %			
měření	1.	2.	
t (min)	h (cm)	h (cm)	Øh (cm)
0,0	20,5	20,5	20,50
0,5	19,1	17,8	18,45
1,0	17,6	16,1	16,85
1,5	16,1	15,0	15,55
2,0	14,7	14,2	14,45
2,5	13,6	13,3	13,45
3,0	12,8	12,7	12,75
3,5	11,5	12,1	11,80
4,0	11,1	11,0	11,05
4,5	10,8	10,7	10,75
5,0	10,5	10,4	10,45
6,0	10,3	10,2	10,25
7,0	9,8	10,0	9,90
8,0	9,4	9,9	9,65
9,0	8,0	9,6	8,80
10,0	7,5	9,4	8,45
15,0	6,0	6,3	6,15
20,0	1,9	4,6	3,25
25,0	0,9	1,6	1,25
30,0	0,3	1,2	0,75
T (°C)	22,6	21,9	22,3
t _p (s)	18	16	17,0

Tab. 10: Výsledky měření stability pěny piva u komerčního piva

Bakalář - 4,9 %			
měření	1.	2.	
t (min)	h (cm)	h (cm)	Øh (cm)
0,0	20,5	20,5	20,50
0,5	18,0	19,1	18,55
1,0	16,2	17,4	16,80
1,5	14,9	16,1	15,50
2,0	13,8	15,1	14,45
2,5	13,1	13,4	13,25
3,0	10,8	12,4	11,60
3,5	10,4	11,9	11,15
4,0	10,1	11,8	10,95
4,5	9,8	10,6	10,20
5,0	9,6	9,8	9,70
6,0	9,2	9,6	9,40
7,0	8,8	9,5	9,15
8,0	8,4	7,0	7,70
9,0	8,1	7,0	7,55
10,0	7,7	6,5	7,10
15,0	5,4	4,6	5,00
20,0	1,6	0,9	1,25
25,0	0,4	0,2	0,30
30,0	0,2	0,0	0,10
T (°C)	22,1	21,3	21,7
t _p (s)	15	20	17,5

Bakalář - 5,8 %			
měření	1.	2.	
t (min)	h (cm)	h (cm)	Øh (cm)
0,0	20,5	20,5	20,50
0,5	17,4	18,0	17,70
1,0	14,8	15,5	15,15
1,5	12,2	12,4	12,30
2,0	10,7	11,6	11,15
2,5	10,1	10,9	10,50
3,0	9,9	10,4	10,15
3,5	9,4	10,1	9,75
4,0	9,2	9,6	9,40
4,5	8,6	9,3	8,95
5,0	8,3	9,1	8,70
6,0	7,8	8,4	8,10
7,0	7,2	7,9	7,55
8,0	6,2	7,3	6,75
9,0	5,9	7,0	6,45
10,0	5,6	6,4	6,00
15,0	3,6	2,4	3,00
20,0	0,9	0,9	0,90
25,0	0,1	0,1	0,10
30,0	0,0	0,0	0,00
T (°C)	21,8	22,3	22,1
t _p (s)	17	14	15,5

8.3 Tabulky výsledků měření stability pěny piva dle Rudina u přidavku biosurfaktantů

Tab. 11: Výsledky měření stability pěny piva s přidavky saponinů

Saponiny 50 mg/l			
měření	1.	2.	
t (min)	h (cm)	h (cm)	Øh (cm)
0,0	20,5	20,5	20,50
0,5	19,3	19,2	19,25
1,0	18,0	17,3	17,65
1,5	17,0	16,2	16,60
2,0	15,8	14,9	15,35
2,5	14,9	13,9	14,40
3,0	13,9	12,9	13,40
3,5	12,5	12,0	12,25
4,0	11,7	11,3	11,50
4,5	11,1	10,8	10,95
5,0	10,8	10,4	10,60
6,0	10,0	9,4	9,70
7,0	8,7	8,7	8,70
8,0	8,1	8,0	8,05
9,0	7,6	7,1	7,35
10,0	6,7	6,2	6,45
15,0	1,4	1,4	1,40
20,0	0,4	0,3	0,35
25,0	0,0	0,0	0,00
30,0	0,0	0,0	0,00
T (°C)	21,3	22,1	21,7
t _p (s)	19	19	19,0

Saponiny 75 mg/l			
měření	1.	2.	
t (min)	h (cm)	h (cm)	Øh (cm)
0,0	20,5	20,5	20,50
0,5	19,0	19,3	19,15
1,0	17,3	17,9	17,60
1,5	16,5	16,8	16,65
2,0	15,3	15,6	15,45
2,5	14,0	14,9	14,45
3,0	12,7	13,9	13,30
3,5	11,5	12,9	12,20
4,0	10,3	11,6	10,95
4,5	9,9	10,8	10,35
5,0	9,4	10,4	9,90
6,0	8,6	9,3	8,95
7,0	7,6	8,6	8,10
8,0	6,6	7,7	7,15
9,0	5,7	6,7	6,20
10,0	5,0	5,6	5,30
15,0	1,0	2,1	1,55
20,0	0,4	0,9	0,65
25,0	0,1	0,4	0,25
30,0	0,0	0,0	0,00
T (°C)	21,8	22,1	22,0
t _p (s)	16	20	18,0

Saponiny 100 mg/l			
měření	1.	2.	
t (min)	h (cm)	h (cm)	Øh (cm)
0,0	20,5	20,5	20,50
0,5	19,5	19,4	19,45
1,0	17,9	18,0	17,95
1,5	16,6	17,0	16,80
2,0	15,7	16,0	15,85
2,5	14,9	15,3	15,10
3,0	13,9	13,9	13,90
3,5	13,1	12,6	12,85
4,0	12,5	11,5	12,00
4,5	11,6	10,8	11,20
5,0	10,8	10,2	10,50
6,0	9,9	9,2	9,55
7,0	9,0	8,4	8,70
8,0	8,3	7,8	8,05
9,0	7,5	6,8	7,15
10,0	6,6	6,1	6,35
15,0	2,2	2,0	2,10
20,0	0,6	0,7	0,65
25,0	0,3	0,4	0,35
30,0	0,1	0,1	0,10
T (°C)	22,3	22,4	22,4
t _p (s)	19	22	20,5

Tab. 12: Výsledky měření stability pěny piva s přidavky soforolipidů - laktonová forma

Soforolipidy lakt. 10 mg/l			
měření	1.	2.	
t (min)	h (cm)	h (cm)	Øh (cm)
0,0	20,5	20,5	20,50
0,2	18,6	19,7	19,15
0,3	17,7	18,2	17,95
0,5	15,3	16,7	16,00
0,7	13,9	15,5	14,70
0,9	12,9	14,2	13,55
1,0	11,7	13,1	12,40
1,2	10,0	11,4	10,70
1,5	8,6	9,7	9,15
1,8	8,0	8,4	8,20
2,0	6,5	7,7	7,10
2,2	5,8	6,6	6,20
2,5	5,7	5,4	5,55
3,0	3,2	2,9	3,05
3,5	1,1	1,0	1,05
4,0	0,7	0,6	0,65
4,5	0,5	0,4	0,45
5,0	0,3	0,3	0,30
10,0	0,1	0,0	0,05
15,0	0,0	0,0	0,00
T (°C)	21,2	22,1	21,7
t _p (s)	15	20	17,5

Soforolipidy lakt. 20 mg/l			
měření	1.	2.	
t (min)	h (cm)	h (cm)	Øh (cm)
0,0	20,5	20,5	20,50
0,2	18,2	17,5	17,85
0,3	16,1	15,4	15,75
0,5	14,2	13,4	13,80
0,7	12,0	10,7	11,35
0,9	10,0	8,7	9,35
1,0	8,2	7,0	7,60
1,2	5,3	3,6	4,45
1,5	2,3	1,1	1,70
1,8	1,3	0,5	0,90
2,0	0,7	0,2	0,45
2,2	0,4	0,1	0,25
2,5	0,3	0,0	0,15
3,0	0,2	0,0	0,10
3,5	0,1	0,0	0,05
4,0	0,0	0,0	0,00
4,5	0,0	0,0	0,00
5,0	0,0	0,0	0,00
10,0	0,0	0,0	0,00
15,0	0,0	0,0	0,00
T (°C)	21,9	21,7	21,8
t _p (s)	19	21	20,0

Soforolipidy lakt. 30 mg/l			
měření	1.	2.	
t (min)	h (cm)	h (cm)	Øh (cm)
0,0	20,5	20,5	20,50
0,2	17,8	17,4	17,60
0,3	13,2	12,6	12,90
0,5	9,4	9,0	9,20
0,7	6,8	6,2	6,50
0,9	4,5	3,8	4,15
1,0	2,3	1,1	1,70
1,2	0,8	0,7	0,75
1,5	0,5	0,5	0,50
1,8	0,4	0,4	0,40
2,0	0,4	0,4	0,40
2,2	0,3	0,2	0,25
2,5	0,2	0,2	0,20
3,0	0,1	0,1	0,10
3,5	0,0	0,0	0,00
4,0	0,0	0,0	0,00
4,5	0,0	0,0	0,00
5,0	0,0	0,0	0,00
10,0	0,0	0,0	0,00
15,0	0,0	0,0	0,00
T (°C)	22,2	21,8	22,0
t _p (s)	19	23	21,0

Tab. 13: Výsledky měření stability pěny piva s přídavky u soforolipidů - kyselá forma

Soforolipidy kys. 10 mg/l				Soforolipidy kys. 20 mg/l				Soforolipidy kys. 30 mg/l				Soforolipidy kys. 50 mg/l			
měření	1.	2.		měření	1.	2.		měření	1.	2.		měření	1.	2.	
t (min)	h (cm)	h (cm)	Øh (cm)	t (min)	h (cm)	h (cm)	Øh (cm)	t (min)	h (cm)	h (cm)	Øh (cm)	t (min)	h (cm)	h (cm)	Øh (cm)
0,0	20,5	20,5	20,50	0,0	20,5	20,5	20,50	0,0	20,5	20,5	20,50	0,0	20,5	20,5	20,50
0,2	20,4	20,4	20,40	0,2	19,7	20,3	20,00	0,2	20,2	19,9	20,05	0,2	18,5	18,7	18,60
0,3	19,8	20,0	19,90	0,3	19,0	19,7	19,35	0,3	19,2	19,2	19,20	0,3	16,4	17,2	16,80
0,5	19,0	19,4	19,20	0,5	18,2	18,9	18,55	0,5	18,8	18,3	18,55	0,5	13,8	15,5	14,65
0,7	18,5	18,4	18,45	0,7	17,7	18,4	18,05	0,7	17,2	17,3	17,25	0,7	12,4	14,0	13,20
0,9	18,1	17,5	17,80	0,9	16,7	17,7	17,20	0,9	16,2	16,3	16,25	0,9	11,2	12,6	11,90
1,0	16,9	17,1	17,00	1,0	16,3	16,5	16,40	1,0	15,5	15,6	15,55	1,0	10,3	11,7	11,00
1,2	16,2	16,3	16,25	1,2	15,7	15,6	15,65	1,2	14,6	15,1	14,85	1,2	9,3	10,8	10,05
1,5	15,0	15,6	15,30	1,5	15,3	14,4	14,85	1,5	14,1	14,1	14,10	1,5	8,8	10,2	9,50
1,8	13,7	15,0	14,35	1,8	14,9	13,7	14,30	1,8	13,3	13,6	13,45	1,8	8,2	9,6	8,90
2,0	13,3	14,3	13,80	2,0	14,3	13,1	13,70	2,0	12,5	12,9	12,70	2,0	7,6	9,1	8,35
2,2	12,9	13,9	13,40	2,2	13,7	12,7	13,20	2,2	12,0	12,5	12,25	2,2	6,9	8,9	7,90
2,5	12,4	13,4	12,90	2,5	13,2	12,0	12,60	2,5	11,7	12,0	11,85	2,5	6,7	8,4	7,55
3,0	11,9	12,7	12,30	3,0	12,3	11,0	11,65	3,0	11,1	11,0	11,05	3,0	5,9	7,7	6,80
3,5	11,5	12,3	11,90	3,5	12,1	10,6	11,35	3,5	10,4	10,0	10,20	3,5	5,2	7,2	6,20
4,0	10,8	12,1	11,45	4,0	11,4	9,5	10,45	4,0	9,7	9,3	9,50	4,0	4,4	1,8	3,10
4,5	10,3	11,0	10,65	4,5	9,1	8,8	8,95	4,5	8,9	8,9	8,90	4,5	3,3	1,1	2,20
5,0	10,2	10,8	10,50	5,0	8,2	8,5	8,35	5,0	8,3	8,5	8,40	5,0	0,4	0,5	0,45
10,0	5,8	5,1	5,45	10,0	1,4	1,4	1,40	10,0	1,6	1,7	1,65	10,0	0,0	0,2	0,10
15,0	0,8	1,1	0,95	15,0	0,8	0,4	0,60	15,0	0,3	0,2	0,25	15,0	0,0	0,0	0,00
T (°C)	22,1	22,1	22,1	T (°C)	21,4	21,2	21,3	T (°C)	21,6	22,1	21,9	T (°C)	21,8	22,2	22,0
t _p (s)	21	23	22,0	t _p (s)	26	25	25,5	t _p (s)	19	18	18,5	t _p (s)	22	23	22,5

Tab. 14: Výsledky měření stability pěny piva s přidavky rhamnolipidů

Rhamnolipidy 10 mg/l			
měření	1.	2.	
t (min)	h (cm)	h (cm)	Øh (cm)
0,0	20,5	20,5	20,50
0,2	20,0	19,9	19,95
0,3	18,4	17,9	18,15
0,5	17,3	17,2	17,25
0,7	16,7	16,5	16,60
0,9	15,0	15,3	15,15
1,0	14,4	14,5	14,45
1,2	13,5	13,6	13,55
1,5	12,9	12,6	12,75
1,8	12,0	11,3	11,65
2,0	11,2	9,7	10,45
2,2	10,9	8,8	9,85
2,5	9,8	8,1	8,95
3,0	8,8	7,3	8,05
3,5	7,6	6,5	7,05
4,0	7,0	6,1	6,55
4,5	6,1	5,4	5,75
5,0	5,8	4,7	5,25
10,0	1,1	1,5	1,30
15,0	0,5	0,5	0,50
T (°C)	22	22,1	22,1
t _p (s)	25	20	22,5

Rhamnolipidy 25 mg/l			
měření	1.	2.	
t (min)	h (cm)	h (cm)	Øh (cm)
0,0	20,5	20,5	20,50
0,2	19,6	20,1	19,85
0,3	18,3	18,5	18,40
0,5	17,5	17,2	17,35
0,7	16,1	16,3	16,20
0,9	15,3	11,3	13,30
1,0	14,4	10,9	12,65
1,2	10,1	7,5	8,80
1,5	9,5	7,4	8,45
1,8	9,3	6,4	7,85
2,0	8,0	6,0	7,00
2,2	7,8	5,8	6,80
2,5	7,8	2,7	5,25
3,0	7,5	2,3	4,90
3,5	1,7	2,2	1,95
4,0	1,7	1,9	1,80
4,5	1,7	1,1	1,40
5,0	0,9	1,0	0,95
10,0	0,6	0,5	0,55
15,0	0,0	0,0	0,00
T (°C)	21,9	22,1	22,0
t _p (s)	28	24	26,0

Rhamnolipidy 50 mg/l			
měření	1.	2.	
t (min)	h (cm)	h (cm)	Øh (cm)
0,0	20,5	20,5	20,50
0,2	18,5	18,4	18,45
0,3	16,8	16,6	16,70
0,5	15,3	15,6	15,45
0,7	15,0	15,0	15,00
0,9	14,5	14,5	14,50
1,0	14,3	14,2	14,25
1,2	12,8	12,1	12,45
1,5	12,3	9,5	10,90
1,8	11,9	8,9	10,40
2,0	10,1	5,5	7,80
2,2	5,9	5,3	5,60
2,5	5,7	3,6	4,65
3,0	5,6	3,4	4,50
3,5	3,1	2,2	2,65
4,0	2,3	1,9	2,10
4,5	2,0	1,7	1,85
5,0	1,9	1,5	1,70
10,0	0,9	0,5	0,70
15,0	0,1	0,1	0,10
T (°C)	21,9	22,1	22,0
t _p (s)	21	23	22,0

8.4 Výsledky měření povrchového napětí

Tab. 15: Výsledky měření povrchového napětí u modelového piva a reálných piv

	obs. Alk (%)	ST (mN/m)
Zlatopramen	0,0	45,7
	1,0	45,2
	2,0	45,3
	3,0	44,5
	4,0	44,9
	5,0	46,0
	6,0	45,5
	7,0	44,7
	8,0	44,1
Bakalář	4,0	43,6
	4,9	42,3
	5,8	42,2

Tab. 16: Výsledky měření povrchového napětí u přidavku biosurfaktantů

Saponiny		Soforolipidy			Rhamnolipidy	
			Laktonová forma	Kyselá forma		
c (mg/l)	ST (mN/m)	c (mg/l)	ST (mN/m)	ST (mN/m)	c (mg/l)	ST (mN/m)
0	46,0	0	46,0	46,006	0	46,0
10	44,5	2	44,6	45,291	2	40,6
20	44,0	5	43,3	44,856	4	37,3
50	42,8	10	40,5	44,283	10	32,3
75	41,2	20	37,7	43,260	25	29,1
100	41,0	30	35,9	44,004	50	28,7
150	40,8	50	35,9	41,232	100	28,0
250	39,5	100	35,1	41,063	200	27,9